

На правах рукописи

**ГРИГОРЯН
Виктория Аликовна**

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

3.1.7. Стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Сирак Сергей Владимирович.

Официальные оппоненты:

Иорданишвили Андрей Константинович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-Медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, профессор кафедры;

Михальченко Дмитрий Валерьевич, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра пропедевтики стоматологических заболеваний, заведующий кафедрой.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 13 февраля 2024 г. в 11.00 час. на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) (350063, Краснодар, ул. Седина, 4, тел. (861)2625018).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан « ____ » _____ 202_ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.014.02
доктор медицинских наук,
профессор



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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.Л.Ли, 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.Тревиллато, 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.Морисита, 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 сенсibilизации 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 (M.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 грибков.

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 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 антиглюкокуронидазную активность, направленную на потенцирование антимикробного статуса в полости рта в сроки от 5 до 90 суток после начала их использования.

Полученные в диссертационном исследовании научные данные могут быть использованы при разработке новых схем лечения и профилактики воспалительных заболеваний пародонта с использованием фармакологических средств.

Методология и методы исследования. В диссертационной работе нашли свое применение 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. Для изучения микробных ассоциаций пародонтального кармана и определения чувствительности выделенных штаммов бактерий и грибов к антимикробным препаратам использованы микробиологические методы, кроме этого, широко применялись общепринятые клинические (включая расчет гигиенических и пародонтальных индексов), лабораторные и статистические методы исследования.

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. Достоверность результатов, полученных при выполнении исследований определяется общей репрезентативностью выборки экспериментальных (n=140) и клинических (n=171) наблюдений, а также наличием групп сравнения. 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. Диссертационное исследование выполнено в Ставропольском государственном медицинском университете на кафедре стоматологии в рамках отраслевой научно-исследовательской программы №22 «Стоматология». Номер государственной регистрации: 05506863291.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общая 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 в лабораториях научно-инновационного объединения и кафедре стоматологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, экспериментальные исследования – на базе аграрного университета (Ставрополь).

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 м² 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 верхушек межзубных перегородок, отмечали по-

движность зубов 3-ей степени, патологические карманы, глубиной более 5 мм с явлениями гноетечения.

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.

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.

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

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

Биохимические исследования. В экспериментальной части исследования: исследовали элементы системы ПОЛ (перекисного окисления липидов) и АОС (антиокси-

дантной системы) на Спектрофотометре ЮНИКО 2800 (производитель - UNITED PRODUCTS & INSTRUMENTS, США), определяли концентрацию малонового альдегида (МДА) с помощью тиобарбитуровой кислоты (ТБК), антиоксидантно-прооксидантный индекс (АПИ).

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 цитофлуориметрии 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 Mancini.

Состояние цитокиновой регуляции определяли по содержанию интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10) и ФНО α 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-TEK INSTRUMENTS (США).

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

Идентификацию возбудителей инфекций проводили на вторые сутки. Идентификацию *Streptococcus pyogenes* (StrA), *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, представителей *Enterobacteriaceae* spp., *Enterococcus* spp., НФБ и анаэробов производили по утвержденным методикам с помощью диагностического набора «Стрепто-тест-16» и оценивали вероятность их родства к *Streptococcus*. С помощью тест-систем ММТ Е-1 и ММТ Е-2 (ЦКФФ, Ставрополь) после окраски и микроскопии производилась идентификация энтеробактерий.

Для дифференцировки НФБ (*Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp.), выросших на среде с добавлением глицерина, использовали оксидазный тест (диски ТахоН, BectonDickinson, США). Идентификацию грибков производили на селективной хромогенной среде для выделения и определения вида дрожеподобных грибков (HiCrome Candida Differential Agar, HiMedia, Индия). Интерпретация результатов определения чувствительности микроорганизмов производилась в полном соответствии с установленными методическими указаниями правилами.

Молекулярно-генетическое исследование. Биологический материал, полученный от пациентов центрифугировали в подготовленных пробирках при 10000 об/мин в течение 30 сек, затем 100 мкл пробы переносили в пробирку из набора для выделения ДНК с реагентами «ДНК-ЭКСПРЕСС».

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, пробирки центрифугировали при 12000 об/мин в течение 15 сек (рисунок 1), полученный супернатант использовали при детекции продуктов амплификации (рисунок 2 - а), которая 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 - б).

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.



Рисунок 1 – подготовка к анализу методом полимеразной цепной реакции «ДНК-ЭКСПРЕСС»

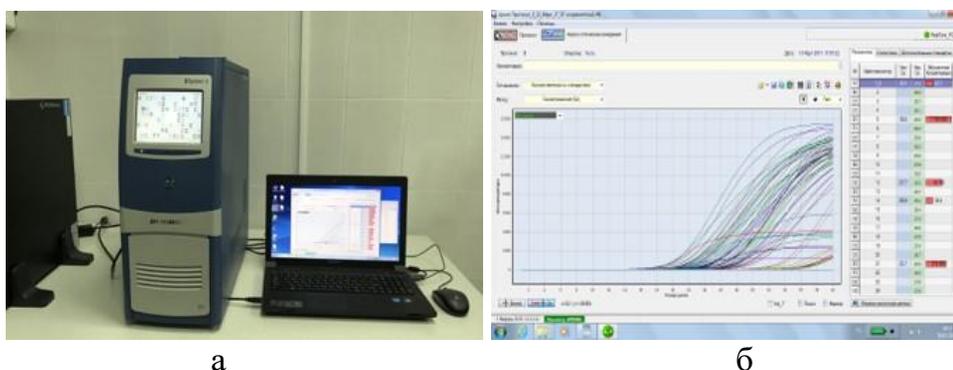


Рисунок 2 – а - амплификатор детектирующий "ДТ Прайм" ("ДНК-Технология"); б - пример результата ПЦР-диагностики

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 наблюдаемых 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.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

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 показала, что 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 выраженный характер. Таким образом, при экспери-

ментальном 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 (рисунок 3).

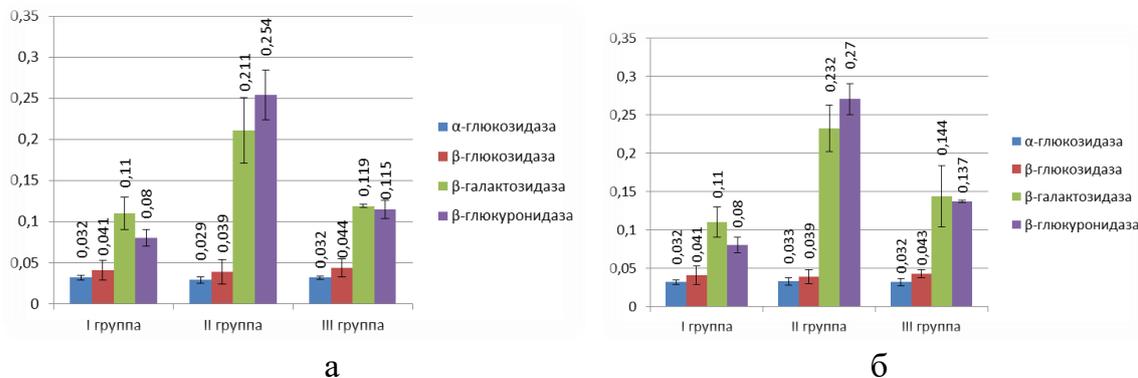


Рисунок 3 – активность кислых гликозидаз в тканях десны при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ($M \pm m$). Экспериментальный ХГПЛСТ (а) и ХГПССТ (б), $n=40$

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. При экспериментальном ХГПЛСТ в смешанной слюне активность пероксидазы росла 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 у животных группы сравнения данный показатель составил $425,4 \pm 23,4$ (рисунок 4).

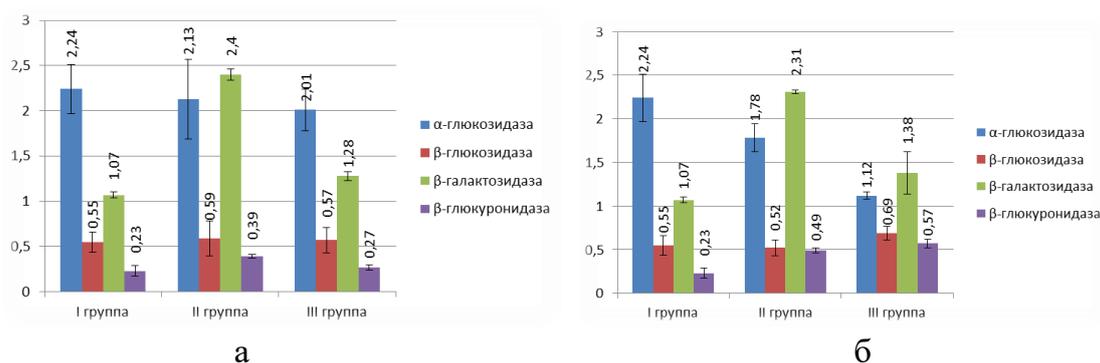


Рисунок 4 – активность кислых гликозидаз в смешанной слюне при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ($M \pm m$). Экспериментальный ХГПЛСТ (а) и ХГПТСТ (б), $n=40$

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 ($p < 0,05$). Результаты определения прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза при патогенетической терапии воспалительных заболе-

ваний тканей пародонта показали, 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.

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 5).

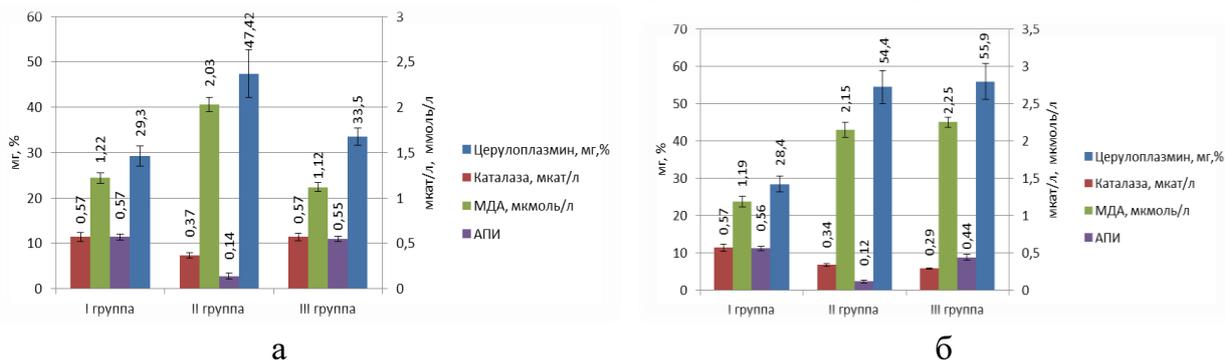


Рисунок 5 – значение уровня перекисного окисления липидов и показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови крыс с экспериментальным ХГПЛСТ (а) ХГП-ССТ (б) и при использовании РТК ($M \pm m$), 60 суток

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. 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.

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-прооксидантного индекса в 4 раза. 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-прооксидантного индекса выросло в 2,3 раза, а уровень МДА, наоборот, стало ниже в 1,4 раза (рисунок 6).

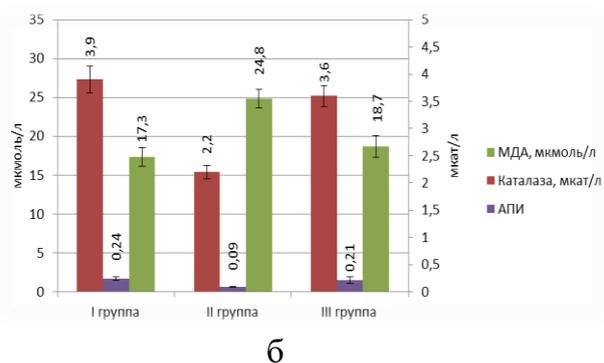
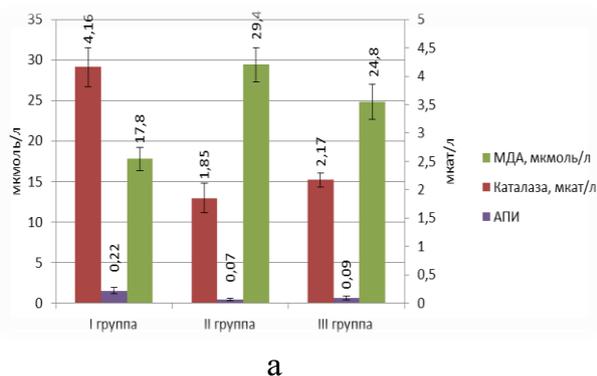


Рисунок б – перекисное окисление липидов и показатели антиоксидантной системы в гомогенатах тканей десны крыс с экспериментальным ХГПТСТ и при использовании РТК ($M \pm m$), 60 суток (а) и 90 суток (б)

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 ХГП-ССТ и ХГПТСТ.

На следующем этапе необходимо было оценить структуру выделяемой микрофлоры из пародонтального кармана и корня языка у пациентов с различными формами хронического пародонтита микробиологическими и молекулярно-генетическими методами.

В ходе проведенного исследования получены результаты, свидетельствующие о частом выделении в чистой культуре у большинства обследованных пациентов анаэробных возбудителей. 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. 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 «Сt», 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 «Сt» были ниже диагностического порога (таблица 1). *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%).

Таблица 1 - Анализ результатов молекулярно-генетического исследования

Микроорганизм	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%

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.

Интересным следует признать, что тяжесть ХГП сопряжена с большей вероятностью выделения их материала пациентов, полученного из ЗДК, *Porphyrromonas* 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 ($p < 0,05$).

Оценка чувствительности основных возбудителей инфекционных процессов при хроническом пародонтите показала, что 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 амоксициллин/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 грибов флуконазол сохранял высокую активность в 75% случаев, то только 1 штамм из 15 грибов *non-albicans* оказался чувствительным к данному широко используемому противомикробному препарату. Если брать все штаммы грибов, то нистатин оказался активным в отношении 32 из 35 штаммов (93,3% чувствительных штаммов), интраконазол – 33 из 35, а вориконазол подавлял рост всех изученных грибов.

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 грибов к флуконазолу заставляет пересмотреть подходы к противогрибковой терапии при генерализованных формах хронического пародонтита в пользу применения местной терапии нистатином, или препаратов новой генерации.

Результаты исследования иммунитета у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом показали, что развитие необратимых деструктивных изменений в пародонте в условиях длительного хронического воспаления сопровождается разноплановыми изменениями в системе местного иммунитета ротовой полости.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что у больных группы сравнения-2 с ХКГ выявлена тенденция к повышению титра β -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 ($p < 0,005$).

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 β -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 отсутствие 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 β -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, $p < 0,005$). При недостаточном содержании SIgA в секретах создаются предпосылки для развития аллергических и аутоиммунных процессов.

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.

Таблица 2 – Значение некоторых показателей местного иммунитета в ротовой жидкости у больных с хроническим генерализованным пародонтитом различной степени тяжести

Статус	Лизоцим (мкг/мл)	β -лизины (отн.ед.)	SIgA (г/л)	IgA (г/л)	IgG (г/л)
Интактный пародонт	505,4±10,6	22,4±0,9	0,312±0,013	0,225±0,003	0,496±0,007
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 $P_1 > 0,005$
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 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,01$
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 $P_1 > 0,005$ $P_{2-3} < 0,005$
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-I 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)

Как показали результаты исследования, 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.

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. 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 β -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 β -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 боль-

ных 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.).

Анализируя полученные данные корреляционного анализа об уровнях значимости взаимосвязей между показателями иммунной и неспецифической резистентности организма и состоянием тканей пародонта, установлено, 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 β -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 - β -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).

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

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.

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 возростала 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 β -глюкуронидазы и β - галактозидазы в смешанной слюне и пародонтальных тканей.

2. Под влиянием разработанного терапевтического комплекса, включающего иммуномодулятор Гепон, экзогенный глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат происходит восстановление уровня церулоплазмина, 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 β -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 (С3-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 (лизозима, 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.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективы дальнейшей разработки темы лежат в области создания новых и усовершенствования существующих методов терапии воспалительных заболеваний тканей пародонта, включая методы с использованием физического и химико-физического принципов, отработке новых высокоинформативных способов диагностики на ранних стадиях заболевания.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИСЕРТАЦИИ

1. Григорян, В.А. Некоторые показатели гомеостаза и биоценоза полости рта у пациентов с воспалительными заболеваниями тканей пародонта / В.А. Григорян, Н.И. Быкова // Научный альманах. – 2016. – №12-2(26). – С. 264-270.

2. Григорян, В.А. Цитологические особенности лечебно-профилактических мероприятий при воспалении тканей пародонта / В.А. Григорян, Н.И. Быкова // Научный альманах. – 2016. – №12-2(26). – С. 271-277.

3. *Быкова, Н.И. Защитные ферментативные системы организма при экспериментальном воспалении тканей пародонта / Н.И. Быкова, А.В. Одольский, В.А. Григорян // Cathedra. – 2016. – №58. – С. 28-32.

4. *Быкова, Н.И. Показатели клеточного и гуморального иммунитета при экспериментальном воспалении тканей пародонта / Н.И. Быкова, А.В. Одольский, В.А. Григорян // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – №6(161). – С. 20-26.

5. *Быкова, Н.И. Применение глюкозамина и хондроитина при воспалительных и воспалительно-дистрофических заболеваниях пародонта (экспериментальное исследование) / Н.И. Быкова, А.В. Одольский, В.А. Григорян // Аллергология и иммунология. – 2016. – Т.17, №3. – С. 208-212.

6. *Быкова, Н.И. Влияние экзогенного глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата на синтез нуклеиновых кислот в тканях пародонта при экспериментальном воспалении / Н.И. Быкова, А.В. Одольский, В.А. Григорян // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – №2 (163). – С. 29-33.

7. *Патоморфологические особенности тканей пародонта при экспериментальном остеопорозе / Н.И. Быкова, Т.Л. Кобылкина, В.А. Григорян [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2017. – №2(21). – С. 76-78.

8. *Влияние экзогенного глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата на биохимические показатели сыворотки крови и ткани пародонта при экспериментальном воспалении / Н.И. Быкова, А.В. Одольский, И.М. Быков, В.А. Григорян // Российский стоматологический журнал. – 2017. – №3(22). – С.128-132.

9. Григорян, В.А. Технология применения глюкозамина и хондроитина при воспалительных и воспалительно-дистрофических заболеваниях пародонта / В.А. Григорян, Н.И. Быкова // В сборнике: Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы III международной научно-практической конференции. – 2017. – С. 78-82.

10. Григорян, В.А. Технологические особенности бактериологического мониторинга острого пародонтита / В.А. Григорян, И.А. Копылова // В сборнике: Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы III международной научно-практической конференции. – 2017. – С. 286-288.

11. *Быкова, Н.И. Экспериментальное обоснование применения глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата при заболеваниях пародонта / Н.И. Быкова, А.В. Одольский, В.А. Григорян // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2017. – №2(12). – С. 195-198.

12. *The role of reductive-oxidative, glycolytic&phosphatase enzymes of connective tissue of blood vessels walls of periapical granulomas / S.V. Sirak, T.L. Kobylkina, V.A. Grigoryan [et al.] // International Journal of Advanced Biotechnology and Research. – 2017. – №2(7). – С. 728-731.

13. Морфологические и гистохимические изменения тканей пародонта после одонтопрепарирования постоянных зубов / В.А. Григорян, С.В. Сирак, Е.В. Щетинин, Г.Д. Вафиади, // Стоматолог. Минск. – 2018. – №4(31). – С. 77-82.

14. *Особенности клинического выбора антибактериальных средств терапии хронического генерализованного пародонтита по результатам микробиологического и молекулярно-генетического исследования / В.А. Григорян, М.Г. Перико-

ва, С.В. Сирак [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – №4(14). – С. 649-653.

15. *Патент 2703530 Российская Федерация, МПК⁷ G 09В 23/28 (2006.01). Стоматологический гель для лечения и профилактики пародонтита / Авторы: С.В. Сирак; Е.В. Щетинин; Н.И.Быкова; В.А. Григорян; заявители и патентообладатели Сирак С.В., Щетинин Е.В., ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2017135878 (062608) заявл. 09.10.2017; дата гос. регистрации в реестре изобретений РФ 21.10.2019; опубл. 21.10.2019; Бюл. № 30. – 12 с.

16. *Патент 2706238 Российская Федерация, МПК⁷ G 09В 23/28 (2006.01). Способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите / Авторы: С.В. Сирак; А.А.Овсянникова, И.М.Быков, В.А.Григорян; заявители и патентообладатели Сирак С.В., А.А.Овсянникова, И.М.Быков, ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2019108829 (017019) заявл. 26.03.2019; дата гос. регистрации в реестре изобретений РФ 15.11.2019; опубл. 15.11.2019; Бюл. № 32. – 12 с.

17. * Biomarkers and prognostic potential of oral fluid for early diagnosis of chronic periodontitis / А.А. Zub, Т.У. Gaivoronskaya, V.A. Grigoryan [et al.] // Medical News of North Caucasus. – 2022. – 2(17). – С. 217-221.

18. * Индексная оценка клинической эффективности иммуномодулирующей и остеотропной терапии хронического генерализованного пародонтита различной степени тяжести: проспективное когортное исследование / Н.И. Быкова, С.В. Сирак, В.А. Григорян [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2023. – №30(3). – С. 34-43.

* – работа опубликована в журналах, 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.

Список сокращений

АОС – антиоксидантная система;

АПИ – антиоксидантно-прооксидантный индекс;

ГГХС – глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат;

ДЖ – десневая жидкость;

ЗДК – зубодесневой карман;

ИГ – иммуномодулятор Гепон;

ПОЛ – перекисное окисление липидов;

ХГП – хронический генерализованный пародонтит;

ХГПЛС – хронический генерализованный пародонтит легкой степени;

ХГПСС – хронический генерализованный пародонтит средней степени;

ХГПЛС – хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени;

IF – индекс степени деструкции костной ткани (Fuch, 1985);

PBI – индекс кровоточивости десневых сосочков;

SBI – индекс кровоточивости десневой борозды (по Muhlemann и Son, 1971).