

На правах рукописи

Дударь Марина Вячеславовна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ТЕРПЕНОИДСОДЕРЖАЩЕГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА
В ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПАРОДОНТИТА**

14.01.14 Стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Саратов-2020

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

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор *Молоков Владислав Дмитриевич*

Научный консультант:

доктор биологических наук, профессор *Васильева Людмила Сергеевна*

Официальные оппоненты:

Блашкова Светлана Львовна – доктор медицинских наук, профессор; ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России; кафедра терапевтической стоматологии; заведующая кафедрой

Успенская Ольга Александровна – доктор медицинских наук, доцент; ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; кафедра терапевтической стоматологии; заведующая кафедрой

Ведущее учреждение: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.094.04 на базе ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Б. Казачья, 112

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России и на сайте организации www.sgtmu.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Л.В. Музурова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Воспалительные заболевания, особенно сопровождающиеся вторичным инфицированием, до сих пор привлекают пристальное внимание многих исследователей ввиду недостаточной эффективности предлагаемых средств лечения, развития резистентности микроорганизмов или других нежелательных последствий (раздражающего и цитолитического действия, аллергических реакций и т. п.) (Амхадова М.А. и др., 2016; Крикун Е.В., Блашкова С.Л., 2017; Успенская О.А., 2019). В связи с этим в настоящее время крайне важен поиск новых средств, обладающих противовоспалительным и антибактериальным действием, с минимизированным риском побочных явлений.

Особое значение такие исследования приобретают в пародонтологии, которая признает воздействие на этиологические и патогенетические факторы одним из важнейших и перспективных условий профилактики и лечения заболеваний пародонта (Качесова Е.С. и др., 2017; Успенская О.А. и др., 2018). Исходя из этого в обязательный алгоритм комплексного лечения пародонтита включена единовременная элиминация пародонтопатогенной микрофлоры, разрушение и устранение биопленки, что предупреждает реинфицирование (Krikun E.V.et al., 2018). Вместе с тем свойство биопленки быстро восстанавливаться диктует необходимость дополнительного медикаментозного воздействия, которое максимально предотвращает ее образование и не оказывает негативного влияния на окружающие ткани и сапрофитную микрофлору (Успенская О.А. и др., 2018). Вследствие этого важным и актуальным аспектом проблемы становится выбор препаратов, действие которых при минимальной травматичности направлено на сокращение вторичной альтерации тканей и продолжительности острого воспаления, создания оптимальных условий для репаративных процессов.

Степень разработанности темы исследования. Теоретико-методологическую базу для проведенного исследования составили труды И.О. Убашеева (1998), О.О. Янушевича (2016), А.И. Грудянова (2013) о лечебных

эффектах биологически активных веществ, которые могут воздействовать на клеточный метаболизм и стимулировать регенерацию тканей при воспалительных заболеваниях пародонта. В последнее десятилетие показаны преимущества фармако-физиотерапевтических методов лечения болезней пародонта (Грачева Е.В. и др., 2013; Крихелли Н.И. и др., 2013; Teymouri F. et al., 2016), сочетающих медикаментозные средства лечения, включая препараты растительного происхождения, с физиотерапевтическими воздействиями (Корчажкина Н.Б. и др., 2014; Arany P.R. et al., 2014), в том числе ультразвуком, обладающим противовоспалительным и регенерационным действием (Занегин Д.В., 2004; Шумский А.В., 2008).

Известны многогранные эффекты препаратов растительного происхождения, содержащих терпеноиды: антимикробный, обезболивающий, мембраностабилизирующий, противовоспалительный, иммуномодулирующий, противоопухолевый, антиэкссудативный, стимулирующий регенерацию тканей (Hassan S.B. et al., 2010; Лацерус Л.А. и др., 2012; Хисматулина И.М. и др., 2017). Эти эффекты раскрывают широкие возможности использования монотерпеноидов для лечения воспалительных заболеваний пародонта.

Все изложенное дает основание считать своевременным и целесообразным изучение терапевтического действия терпеноидсодержащего средства, полученного из пихты сибирской, на динамику пародонтита, что и определило цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования – повышение эффективности лечения пародонтита путем воздействия на воспалительный процесс терпеноидсодержащим растительным средством и выявление механизмов противовоспалительного и заживляющего действия этого средства в эксперименте.

Для реализации поставленной цели решались **четыре задачи**:

1. Оценить антибактериальную активность терпеноидсодержащего бальзама в сравнении с раствором хлоргексидина биглюконата.

2. Изучить эффекты водных растворов терпеноидсодержащего бальзама и хлоргексидина биглюконата на структуру тканей пародонта в острый период воспаления при экспериментальном пародонтите.

3. Исследовать и оценить действия терпеноидсодержащего бальзама в сравнении с хлоргексидинсодержащим гелем на репаративные процессы в пародонте при одинаковых условиях течения острого периода экспериментального пародонтита.

4. Проанализировать механизмы противовоспалительного и заживляющего действия комплекса монотерпеноидов в сравнении с эффектами хлоргексидинсодержащих препаратов, применяемых на протяжении острого и репаративного периодов воспаления при экспериментальном пародонтите.

Научная новизна. Получены доказательства антибактериального, противовоспалительного и регенеративного действия терпеноидсодержащего бальзама из пихты сибирской при экспериментальном пародонтите.

Приоритетными являются данные об отсутствии раздражающего или повреждающего действия терпеноидсодержащего бальзама на воспаленные ткани пародонта. Выявлена его способность уменьшать экссудацию и воспалительный отек, снижать лейкоцитарную инфильтрацию, ограничивать вторичную альтерацию тканей, устранять нарушения гемодинамики, ускорять репаративные процессы и восстановление структуры тканей пародонта.

В эксперименте доказаны лечебные свойства водного раствора бальзама, содержащего комплекс монотерпеноидов, и преимущества его применения в терапии пародонтита, а также возможность его использования в сочетании с ультразвуковым воздействием и трансмембранным диализом.

Теоретическая и практическая значимость работы. Выявлен ряд лечебных эффектов бальзама, содержащего терпеноиды: антибактериальное действие, регресс лейкоцитарной инфильтрации, деструкции тканей и вторичной альтерации, стимуляция репаративных процессов, что является доказательством его способности повысить эффективность и качество лечения воспалительных заболеваний пародонта.

Впервые в эксперименте разработан алгоритм фармако-физиотерапевтического способа лечения пародонтита с применением раствора бальзама, содержащего монотерпеноиды, в сочетании с ультразвуковым скейлингом (УЗ-скейлингом) и трансмембранным диализом (патент на изобретение № 2690433 от 06.04.2018 «Способ лечения пародонтита»).

Разработаны научно-практические рекомендации по использованию раствора терпеноидсодержащего бальзама для коррекции воспалительного процесса в пародонте.

Методология и методы исследования. Объект исследования – терапевтические эффекты бальзама, содержащего монотерпеноиды, при лечении пародонтита. Предметом исследования являлась динамика экспериментального пародонтита у 168 белых крыс. Теоретико-методологическую основу исследования составили учение о воспалении и система теоретических концепций (подходов) к лечению воспалительных заболеваний пародонта. Рабочая гипотеза базируется на современных представлениях о патогенезе пародонтита и предполагает поиск эффективного антимикробного и противовоспалительного средства, а также усовершенствование методик локального воздействия на очаг воспаления в тканях пародонта. В исследовании использованы современные методы: морфологические (обзорная и гистохимическая окраски, морфометрия), микробиологические (определение антимикробной активности испытуемых препаратов).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Терпеноидсодержащий бальзам, полученный из пихты сибирской, не оказывает в отличие от хлоргексидина биглюконата раздражающего действия на воспаленные ткани, обладает высокой антибактериальной активностью и быстрее купирует деструктивные процессы в пародонте при экспериментальном пародонтите.

2. Использование бальзама, содержащего монотерпеноиды, в острый и репаративный периоды пародонтита снижает вторичную альтерацию тканей,

лимитирует экссудацию и лейкоцитарную инфильтрацию, устраняет нарушения гемодинамики и ускоряет репаративную регенерацию тканей пародонта.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала и использованием современных методов исследования, адекватных поставленным задачам. Статистическая обработка полученных данных проведена в соответствии с принципами доказательной медицины. План исследования одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (ИГМУ) (протокол от 27.11.2013).

Результаты диссертационного исследования представлены на научной конференции, посвященной 95-летию организации ИГМУ (Иркутск, 2014), VII научно-практической конференции «Современная стоматология: актуальные вопросы и перспективы развития» (Иркутск, 2014), научно-практической конференции СтАР «Современная стоматология: актуальные вопросы и перспективы развития» (Иркутск, 2015), VIII региональной научно-практической конференции «Теория и практика современной стоматологии» (Иркутск, 2017), областной научно-практической конференции «Актуальные вопросы практической стоматологии» (Иркутск, 2018).

Апробация работы проведена на совместном заседании проблемных комиссий ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России «Общая патология, морфология, физиология, фармакология» и «Стоматология» (протокол № 3 от 19.06.2019).

Внедрение результатов работы в практику. Результаты диссертационного исследования включены в учебный процесс кафедр терапевтической, хирургической, ортопедической стоматологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» Министерства науки и высшего

образования Российской Федерации и ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Личный вклад автора. Диссертантом проведен обзор современной научной литературы по теме исследования. Автором лично, в соответствии с дизайном исследования, сформированы группы лабораторных животных, выполнены эксперименты, проведена статистическая обработка результатов, написание статей и тезисов докладов, диссертации и автореферата диссертации.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 4 – в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных материалов диссертационных исследований. Получен патент на изобретение № 2690433 от 06.04.2018 «Способ лечения пародонтита».

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 159 страницах машинописного текста, иллюстрирована 7 таблицами и 40 рисунками, состоит из введения, четырех глав (обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, обсуждения полученных результатов), выводов, научно-практических рекомендаций, списка литературы из 272 источников, из них 161 на русском и 111 – на иностранных языках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проведен согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96) на базе кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии и кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО ИГМУ. Использованы 168 беспородных белых крыс-самок массой 160 ± 10 г, полученных из вивария ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет»; содержание, питание, уход соответствовали ГОСТ Р 50258-92.

Характеристика используемых вещества способов их применения

Бальзам, содержащий терпеноиды (БСТ), является производным противомикробного препарата Абисил (№ Р N00333902, 2008-10-17),

содержащего природные компоненты пихтового масла, его действующее вещество – терпены пихты сибирской. Состав БСТ отличается от состава препарата Абисил отсутствием масляной основы, очисткой действующего вещества от примесей и введением стабилизаторов, позволяющих получать водный раствор бальзама, что существенно расширяет возможности его использования. Бальзам, содержащий терпеноиды – связнодисперсная система, содержит терпеноиды изоборнилацетат (10–15 %), камфору и терпениол, эфирные масла пихты, а также гелеобразующую основу, воду и стабилизаторы (бензиловый спирт и блоксополимер). В эксперименте применяли водный раствор БСТ (соотношение 1 : 3) для орошения пародонтальных тканей при УЗ-скейлинге и для его трансмембранного диализа в ткани пародонта.

Хлоргексидина биглюконат – антисептическое и дезинфицирующее средство. В стоматологии используют водный раствор в концентрациях от 0,01 до 0,2 %, чаще – 0,05 и 0,06 % (Довгань Р. С. и др., 2012). Для выбора оптимальной концентрации раствора проведен скрининг морфологического состояния тканей пародонта (на 11-е сутки после моделирования пародонтита) при использовании двух концентраций раствора – 0,06 % (8 крыс) и 0,2 % (8 крыс). На основании полученных данных выбран 0,06 %-й раствор хлоргексидина биглюконата, который применяли для орошения пародонтальных тканей при ультразвуковом скейлинге.

Гель «Гиалудент № 1» обладает высокой текучестью, содержит хлоргексидин и гиалуроновую кислоту, оказывает эффективное противомикробное действие. Гель «Гиалудент № 1» применяли для ежедневных десневых аппликаций.

Экспериментальное исследование

Микробиологические методы. *In vitro* испытывали антимикробную активность 0,06 %-го раствора хлоргексидина биглюконата, раствора БСТ (1 : 3) и физраствора (контроль) методом диффузии растворов в плотную питательную среду (мясопептонный агар, ОФС.1.2.4.0010.15). Для каждого раствора использовали по 12 проб биоматериала пародонтальных карманов от

6 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести.

Оценка антибактериального эффекта растворов учитывала два показателя: 1) диаметр зон угнетения роста смешанной микрофлоры пародонтальных карманов; 2) численность колониеобразующих единиц – КОЕ (подсчитывали в нижнем слое питательной среды на всей площади чашки).

Летальный эффект раствора рассчитывали по формуле:

$$L = 100 - \text{КОЕ}_{\text{опыт}} / \text{КОЕ}_{\text{контроль}} \times 100 (\%).$$

Модель экспериментального пародонтита воспроизводили по методике Воложина – Виноградовой (1991) в собственной модификации. Под наркозом (5 %-й р-р Калипсола, 40 мг/кг, в/м) экспериментальным животным рассекали межзубной сосочек, отслаивали от поверхности нижних резцов десну, помещали под нее шелковую лигатуру, восьмиобразно охватывая шейки нижних резцов, и фиксировали двумя швами. Через 7 суток лигатуру снимали (Кулаженко Т. В., 1998). Как показало предварительное морфологическое исследование (16 крыс), после снятия лигатуры клиническая картина соответствовала пародонтиту тяжелой степени (нарастание деструкции тканей в течение 3 суток, обильное гноетечение), лечение которого требует обязательного хирургического вмешательства (протокол ведения больных ХГП «СтАР» от 30.09.2014), выходящего за рамки цели и задач данного исследования. С целью получения экспериментального пародонтита средней степени тяжести, лечение которого может быть ограничено терапевтическими воздействиями, животным после снятия лигатуры в течение 3 суток вводили линкомицина гидрохлорид методом трансмембранного диализа (0,5 мл 30 %-го р-ра ежедневно по 20 минут). Результатом такой модификации модели явилось снижение вторичной альтерации тканей до их состояния при пародонтите средней степени тяжести.

Группы животных (по 32 крысы) формировали случайным образом после завершения моделирования пародонтита средней степени тяжести и предварительной оценки состояния тканей пародонта, которую проводили у

8 животных (нулевые сутки наблюдения). Всем животным после окончания моделирования пародонтита средней степени тяжести в 1-е сутки осуществляли УЗ-скейлинг, со 2-х по 11-е сутки – трансмембранный диализ определенного раствора или аппликации геля.

1-я группа – контрольная – служила эталоном для оценки динамики воспаления, протекающего в условиях его ауторегуляции при отсутствии воздействий испытуемыми веществами, поэтому для УЗ-скейлинга и трансмембранного диализа применялся физраствор.

2-я группа – группа сравнения – получала при УЗ-скейлинге 0,06 %-й раствор хлоргексидина биглюконата, а затем – аппликации хлоргексидинсодержащего геля, что дало возможность оценить результаты влияния хлоргексидина биглюконатана динамику воспалительного процесса в пародонте.

3-я группа – комбинированная группа сравнения – получала при УЗ-скейлинге 0,06 %-й раствор хлоргексидина биглюконата, а затем – трансмембранный диализ водного раствора БСТ, что позволило выявить его влияние на репаративные процессы в сравнении со второй группой, т.к. в обеих группах под воздействием хлоргексидина биглюконата интенсивность острого периода была одинаковой.

4-я группа – основная – получала воздействие водным раствором БСТ и в острый период воспаления (при УЗ-скейлинге), и в репаративный период (трансмембранным диализом), что позволило оценить терапевтические эффекты БСТ в сочетании с механизмами ауторегуляции воспаления.

В каждой экспериментальной группе материал для исследования брали от 8 крыс на каждый срок наблюдения: на 2-е сутки (т.е. в острый период воспаления – через сутки после УЗ-скейлинга), затем на 4, 11 и 18-е сутки эксперимента (для изучения динамики репаративных процессов).

Морфологические методы. Для оценки динамики деструктивных и репаративных процессов в пародонте иссекали фрагмент нижней челюсти, включавший нижние резцы и участок десны между ними. Материал

фиксируют в 10 %-м нейтральном формалине, декальцинируют в 7 %-м растворе HNO_3 , после стандартной обработки получают парафиновые срезы толщиной 9 мкм. Для обзорного описания и морфометрии срезы окрашивают гематоксилин-эозином, для дифференцировки новообразованного (незрелого) коллагена – пикрофуксином по Ван-Гизону. Морфометрию проводят по методу Г.Г. Автандилова (1990) с использованием окулярной сетки и системы анализа изображений (микроскоп «Olympus CX41», программное обеспечение «ImageScopeColor»). Оценивали в процентах объемную долю полнокровных сосудов, экссудата, лейкоцитарного инфильтрата, очагов деструкции, костных отломков, новообразованного коллагена, тканей с нормальной структурой.

Статистические методы исследования. Статистическая обработка данных производилась с помощью программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., США) и Excel (MicrosoftOffice 2010). Использовались непараметрические методы с обсуждением медианы вариационных рядов, *U*-критерия Манна – Уитни (при сравнении двух несвязанных групп) и *T*-критерия Вилкоксона для парных сравнений (двух зависимых групп переменных). Критическое значение уровня статистической значимости принималось равным 0,05 (Реброва О. Ю., 2006; Котельников Г. П., 2012).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная оценка антибактериальной активности хлоргексидина биглюконата и бальзама, содержащего комплекс монотерпеноидов

Микробиологическое исследование убедительно продемонстрировало равнозначность антимикробного действия растворов хлоргексидина биглюконата и БСТ. Установлено, что прямое бактерицидное действие (диаметр угнетения зоны роста микрофлоры) раствора хлоргексидина биглюконата на микрофлору пародонтальных карманов в 1,4 раза мощнее, чем действие БСТ, но при этом устойчивость микрофлоры (количество выросших КОЕ) при воздействии раствора БСТ в 1,5 раза меньше, по сравнению с действием хлоргексидина биглюконата (табл.).

Противоречивость полученных результатов связана, вероятно, со способностью эфирных масел пихты, присутствующих в составе БСТ, диффузно распространяться по питательной среде. При этом интегративный показатель «летальность микрофлоры» оказался под действием БСТ на 4 % выше ($p < 0,001$), чем под влиянием хлоргексидина биглюконата. Учитывая полученные результаты, можно считать доказанным, что антибактериальный эффект БСТ сопоставим с эффектом 0,06 %-го раствора хлоргексидина биглюконата.

Таблица

Размеры зон угнетения роста микрофлоры и количество устойчивых КОЕ при воздействии растворов хлоргексидина биглюконата и терпеноидсодержащего бальзама

Показатель, Me (25;75)	Физраствор (контроль), $n = 12$ № 1	Хлоргексидина биглюконат, $n = 12$ № 2	БСТ, $n = 12$ № 3	Критерий Манна – Уитни
Диаметр зоны угнетения роста (мм)	0	29, 2 (26,4–31,1)	20,5 (19,4–21,2)	$p_{2-3} < 0,001$
КОЕ / мл	$4,7 (4,6–4,8) \times 10^4$	$6 (5,9–6,1) \times 10^3$	$4 (3,9–4,1) \times 10^3$	$p_{2-3} < 0,001$
L (летальность), %	0	87,3 (86,7–87,4)	91,6 (91–92)	$p_{2-3} < 0,001$

Примечание: Me – медиана (в скобках приведены 25 и 75 процентиля), $p < 0,05$; p_{2-3} – различия между значениями проб с растворами хлоргексидина биглюконата и БСТ.

Выявление терапевтических эффектов терпеноидсодержащего бальзама и хлоргексидина биглюконата в острый период экспериментального пародонтита

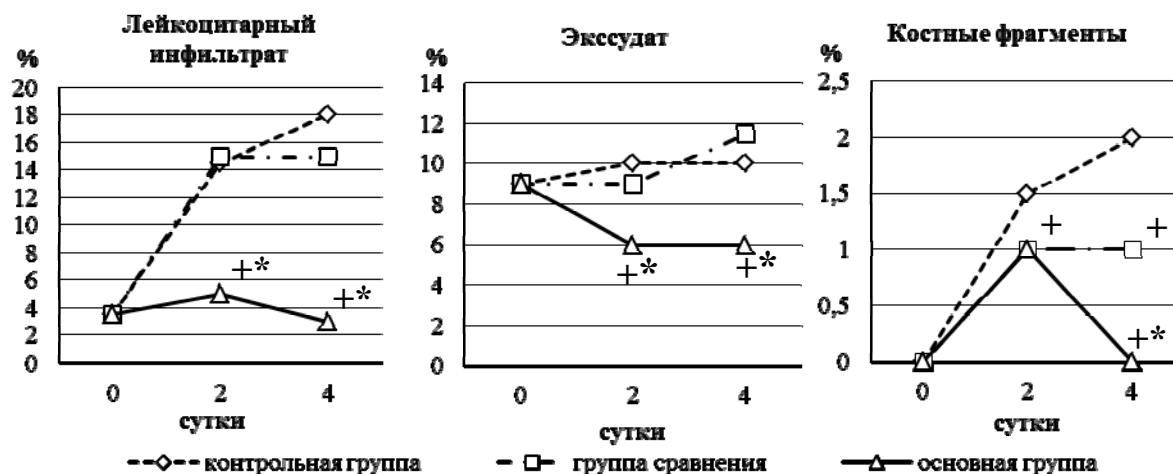
После завершения моделирования пародонтита в 1-е сутки осуществляли стандартную процедуру УЗ-скейлинга пародонтальных карманов, которая направлена на их очищение от пародонтопатогенной микрофлоры и продуктов распада тканей, но неизбежно сопровождается травмирующим воздействием на воспаленные ткани и их вторичной альтерацией в результате деятельности лейкоцитов и патогенной микрофлоры полости рта (т.е. проявлениями острого воспаления). Для лимитирования вторичной альтерации тканей в процессе УЗ-скейлинга пародонтальные карманы орошали в основной группе водным

раствором БСТ, в группе сравнения – 0,06 %-м раствором хлоргексидина биглюконата, что позволило оценить терапевтическую активность испытуемых растворов в острый период экспериментального пародонтита.

Гистологическое исследование состояния тканей пародонта на 2-е сутки наблюдения у животных контрольной группы показало, что через сутки после процедуры УЗ-скейлинга воспаление в пародонте обострилось, и к 4-м суткам наблюдения острые проявления воспаления достигли максимума (рис. 1): лейкоцитарная инфильтрация усилилась в 5,1 раза и распространилась на все уровни корня зуба, увеличилась деструкция зубных альвеол, возросло количество костных отломков, усилилась экссудация отечной жидкости и уменьшилась вдвое доля тканей, сохранивших нормальную структуру.

В группе сравнения, после УЗ-скейлинга с хлоргексидином биглюконатом, воспалительный процесс тоже обострился, но в меньшей степени. Лейкоцитарная инфильтрация возросла несколько меньше (в 4,3–4,7 раза), распространялась в глубокие участки пародонта (как и у контрольной группы животных) и статистически значимо не отличалась от ее значения в контрольной группе, тогда как деструкция альвеолярных отростков была вдвое меньше (рис. 1).

Сопоставляя эти данные, следует учитывать, что у контрольной группы обострение воспаления было обусловлено как дополнительным травмированием тканей при УЗ-скейлинге, так и вторичным инфицированием микрофлорой рта и гистолитическим действием ферментов лейкоцитов, тогда как в группе сравнения хлоргексидин биглюконат подавлял бактериальный компонент. Тем не менее, состояние тканей пародонта в острый период воспаления у животных группы сравнения мало отличалось от контрольной группы: только на 2-е сутки наблюдения сохранность ткани у подопытных животных была лучше (в средней и нижней третях корня), а на 4-е сутки она уже была одинаковой у животных обеих групп (рис. 1).



Ткани с нормальной структурой на разных уровнях корня зуба

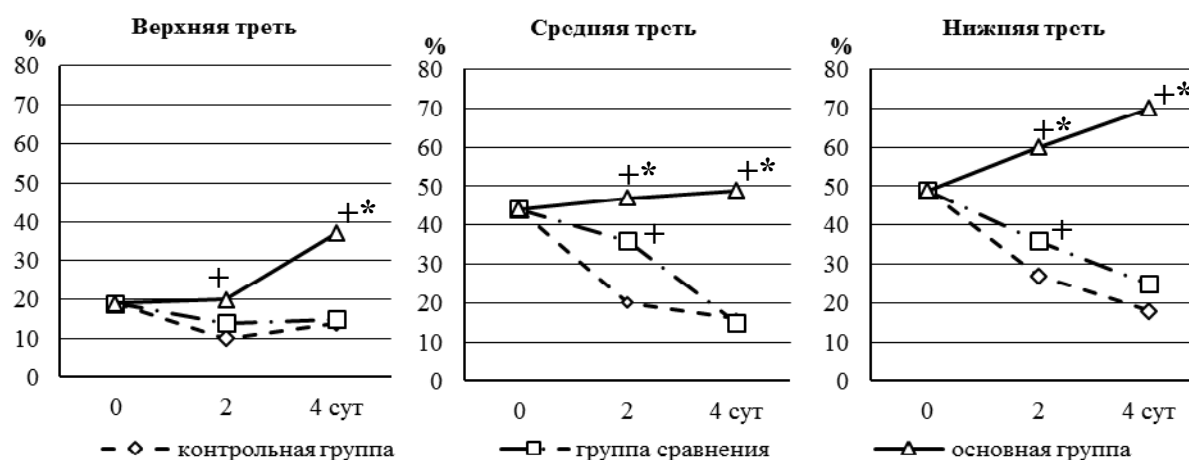


Рис. 1. Изменение объемной доли лейкоцитарного инфильтрата, нерезорбированных костных фрагментов, скоплений экссудата и тканей с нормальной структурой (на разных уровнях корня зуба) после УЗ-скейлинга с применением физраствора (контрольная группа), 0,06 %-го раствора хлоргексидина биглюконата (группа сравнения) и раствора БСТ (основная группа):* – статистически значимое отличие от группы сравнения;+ – от контроля

По-видимому, наблюдаемое в группе сравнения усиление лейкоцитарной инфильтрации и, как следствие, вторичной альтерации тканей связано с раздражающим действием хлоргексидина биглюконата на ткани пародонта. Этим же, вероятно, объясняется сохранение на высоком уровне полнокровия сосудов и активная экссудация отечной жидкости, наиболее выраженная, как и лейкоцитарная инфильтрация, в периодонте дна зубной альвеолы.

Раздражающее действие раствора хлоргексидина биглюконата на воспаленные ткани пародонта подтверждено нашими данными по скринингу двух концентраций раствора хлоргексидина биглюконата (0,06 и 0,2 %) (рис. 2).

Как оказалось, при повышении концентрации раствора хлоргексидина биглюконата, его раздражающий и альтерирующий эффекты усиливаются. Это видно на рис. 2, который иллюстрирует более высокие значения доли лейкоцитарной инфильтрации и скоплений экссудата, но более низкие значения доли тканей, сохранивших нормальную структуру, в условиях применения 0,2 %-го раствора хлоргексидина биглюконата.

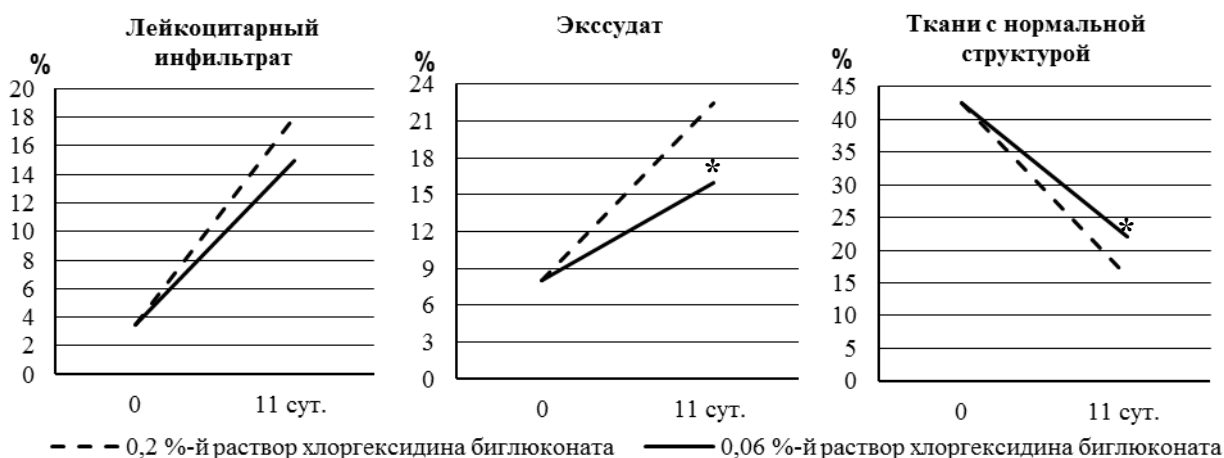


Рис. 2. Изменение объемной доли лейкоцитарного инфильтрата, экссудата и тканей, сохранивших нормальную структуру, в динамике экспериментального пародонтита у животных в условиях применения 0,06 и 0,2 %-го раствора хлоргексидина биглюконата: * – статистически значимые различия между группами

Данные литературы подтверждают и объясняют полученные нами результаты. Многие авторы указывают на взаимосвязь антибактериального действия хлоргексидина биглюконата с его токсическими эффектами, а также отмечают раздражающее и аллергизирующее действие хлоргексидина биглюконата на ткани полости рта: расстройство вкусовой чувствительности, десквамацию эпителия полости рта (Каранов К.Г., 2007).

Более того, установлено, что хлоргексидина биглюконат существенно снижает адаптацию эпителиальных клеток, что проявляется в микрокоагуляции белка и уменьшении показателей биоэлектрических свойств мембран (Довгань Р.С. и др., 2012; Muller Н.Р., 2004). Известно, что бактерицидный эффект препаратов хлора, в том числе и хлоргексидина биглюконата, который

сочетает свойства препаратов хлора и детергентов, связан с влиянием свободного хлора и хлорноватистой кислоты, которая образуется в водных растворах и распадается на атомарный хлор и кислород, вызывающие денатурацию и окисление белков (Довгань Р.С. и др., 2012). Эти же окислители, вероятно, вызывают и повреждение тканевых структур, отмеченное в нашем эксперименте.

В основной группе после проведенного УЗ-скейлинга с орошением пародонтальных тканей раствором БСТ обострение воспаления было кратковременным и слабовыраженным. Лейкоцитарная инфильтрация после УЗ-скейлинга (на 2-е сутки наблюдения) увеличилась в 1,4 раза, а затем прогрессивно уменьшалась (рис. 1). Доля костных отломков на 2-е сутки наблюдения была статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, а с 4-х суток наблюдения они не выявлялись, в отличие от животных группы сравнения, получавших в острый период воспаления хлоргексидина биглюконат, у которых на 2-е сутки наблюдения доля нерезорбированных костных фрагментов не отличалась от ее значения в контрольной группе. Экссудация отечной жидкости у животных основной группы быстро уменьшалась, что может быть связано с более высокой сохранностью структуры тканей пародонта и их дренажной системы. Это подтверждено полученными данными, которые демонстрируют не уменьшение, а, наоборот, увеличение доли тканей с нормальной структурой после УЗ-скейлинга с раствором БСТ (рис. 1). Представленные данные свидетельствуют об отсутствии раздражающего (альтерерирующего) действия раствора БСТ на ткани пародонта, что в сочетании с высокой антибактериальной активностью этого растительного средства способствует более раннему купированию острых воспалительных явлений, в том числе деструкции тканей пародонта, улучшает сохранность структуры тканей и ускоряет восстановление поврежденных тканей.

Влияние терпеноидсодержащего бальзама и хлоргексидинсодержащего геля на репаративные процессы при экспериментальном пародонтите

Проведено сравнение динамики репаративных процессов при экспериментальном пародонтите у крыс контрольной группы (без воздействий) и у крыс двух подопытных групп (сравнения и комбинированной), которым в острый период воспаления проводили УЗ-скейлинг с раствором хлоргексидина биглюконата, а на восстановительном этапе – либо аппликации хлоргексидинсодержащего геля, либо диализ бальзама БСТ.

Восстановительный период у животных подопытных групп отличался от контрольной группы большей долей сохраненных и восстановленных тканей пародонта на 11-е и 18-е сутки наблюдения (рис. 3), причем под влиянием БСТ (комбинированная группа сравнения) этот показатель увеличился статистически значимо больше, чем под влиянием хлоргексидинсодержащего геля (группа сравнения). Это объясняется различием в механизмах действия испытуемых веществ. В частности, гиалуроновая кислота, содержащаяся в геле «Гиалудент № 1», за счет своей гидрофильности способна активизировать передвижение клеток, фагоцитоз, обмен веществ в клетках (Халдояниди С.К., 2011; Хабаров В.Н., 2012; Орехова Л.Ю. и др., 2018), что в совокупности может ускорять восстановительные процессы, тогда как БСТ значительно раньше нормализует гемодинамику и насыщение тканей кислородом, который необходим для созревания коллагеновых структур (Куликов Л.К., 2014).

Справедливость такого объяснения доказывают полученные данные. Во-первых, БСТ в более ранние сроки купирует сосудистую реакцию и восстанавливает нормальное кровоснабжение тканей пародонта. Особенно это заметно в десне, где доля полнокровных сосудов у животных, получавших БСТ, на 11-е сутки наблюдения была статистически значимо меньше, чем у животных контрольной группы (в 2 раза, $p < 0,001$) и у животных, получавших «Гиалудент № 1» (в 1,4 раза, $p = 0,04$), хотя этот показатель в обеих подопытных группах прогрессивно уменьшался с 4-х суток (рис. 3).

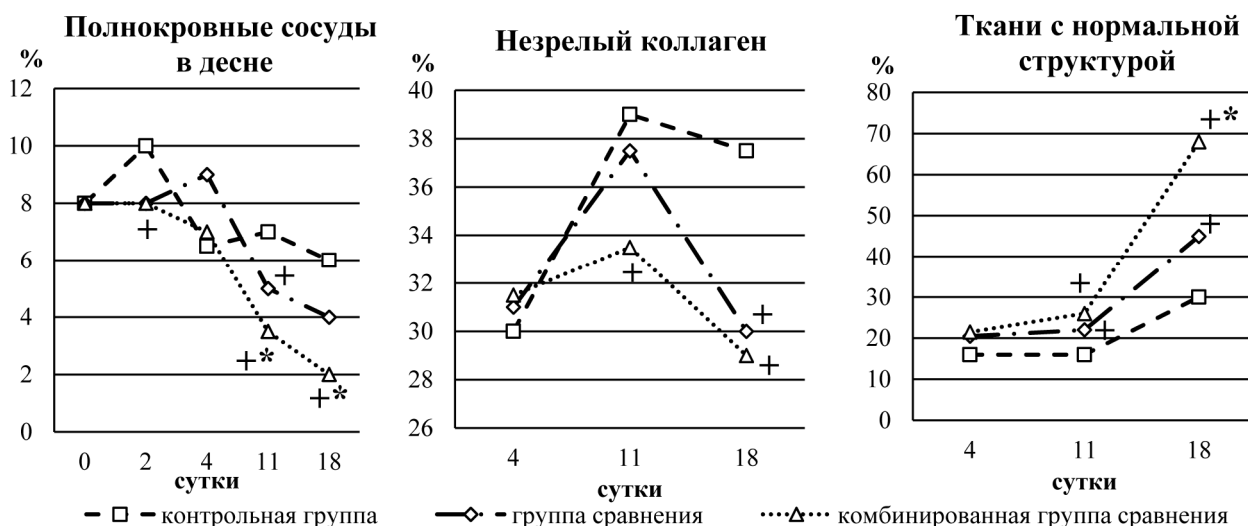


Рис. 3. Изменение объемной доли полнокровных сосудов, незрелого коллагена и тканей с нормальной структурой у животных контрольной группы, группы сравнения и комбинированной группы сравнения в динамике экспериментального пародонтита: * – статистически значимое отличие от группы сравнения; + – от контроля

Вместе с тем при сравнении доли незрелого коллагена видно, что с 4-х по 11-е сутки наблюдения этот показатель у животных, получавших аппликации хлоргексидинсодержащего геля, как и в контрольной группе, нарастает ($p = 0,03$), тогда как у животных, получавших диализ бальзама БСТ, доля незрелого коллагена с 4-х по 11-е сутки статистически значимо не изменялась (рис. 3), а к 18-м суткам уменьшилась ($p < 0,001$). Эти данные свидетельствуют о постепенном снижении синтетической активности фибробластов и ускорении созревания новообразованных коллагеновых волокон под действием бальзама БСТ. У животных, получавших аппликации геля, содержащего хлоргексидина биглюконат, эти процессы развивались позже – с 11-х суток, что, вероятно, связано с сохранением в этих условиях высоких значений отечности тканей, которая может быть обусловлена гидрофильностью гиалуроновой кислоты, содержащейся в геле «Гиалудент № 1». Таким образом, ускорение восстановления тканей пародонта под действием БСТ в большой мере обусловлено более ранним улучшением гемодинамики, что обеспечило ткани пародонта питанием и кислородом, необходимыми для формирования и созревания коллагеновых волокон, а также своевременным удалением отечной жидкости с продуктами распада и медиаторами острой фазы воспаления.

Сравнение терапевтической активности терпеноидсодержащего бальзама и хлоргексидинсодержащих веществ при экспериментальном пародонтите

Для оценки терапевтической активности БСТ и хлоргексидинсодержащих веществ при пародонтите следует учитывать каскадный принцип ауторегуляции воспаления, который реализуется параллельно с эффектами терапевтического воздействия. Из этого вытекает, что терапевтическая эффективность исследуемых веществ детерминируется не только их отдельными эффектами, но и их способностью модулировать запуск каскадных реакций в очаге воспаления. В связи с этим проведено сравнение динамики экспериментального пародонтита в условиях применения БСТ (основная группа) и хлоргексидинсодержащих веществ (группа сравнения) и в острый, и в репаративный периоды воспаления. Животным группы сравнения проводили УЗ-скейлинг с раствором хлоргексидина биглюконата с последующим курсом аппликаций геля, содержащего хлоргексидин и гиалуроновую кислоту. Животным основной группы в процессе УЗ-скейлинга применяли раствор БСТ с последующим курсом трансмембранного диализа этого раствора.

Применение хлоргексидина биглюконата для орошения тканей пародонта при УЗ-скейлинге (группа сравнения) привело к обострению воспалительного процесса, которое проявилось значительным увеличением лейкоцитарной инфильтрации ($p = 0,04$), экссудации ($p = 0,002$) и сохранением высокой степени деструкции костной ткани на 2-е и 4-е сутки наблюдения (рис. 4). Необходимо подчеркнуть, что перечисленные изменения поддерживались на высоком уровне до 11-х суток наблюдения, что указывает на существенную пролонгацию острого периода воспаления.

При орошении пародонтальных тканей раствором БСТ при УЗ-скейлинге (основная группа) обострение воспаления было слабовыраженным и кратковременным (только на 2-е сутки наблюдения) и проявилось одинаковым в обеих группах увеличением деструкции костной ткани без усиления лейкоцитарной инфильтрации, в отличие от группы сравнения. Более того, в основной группе экссудат на 2-е и 4-е сутки наблюдения убывал ($p = 0,04$) из

тканей пародонта, а не прибывал ($p = 0,002$), как в группе сравнения (рис. 4), а доля тканей, сохранивших и восстановивших нормальную структуру, возрастала ($p < 0,001$) (рис. 4), а не уменьшалась ($p = 0,001$), как в группе сравнения.

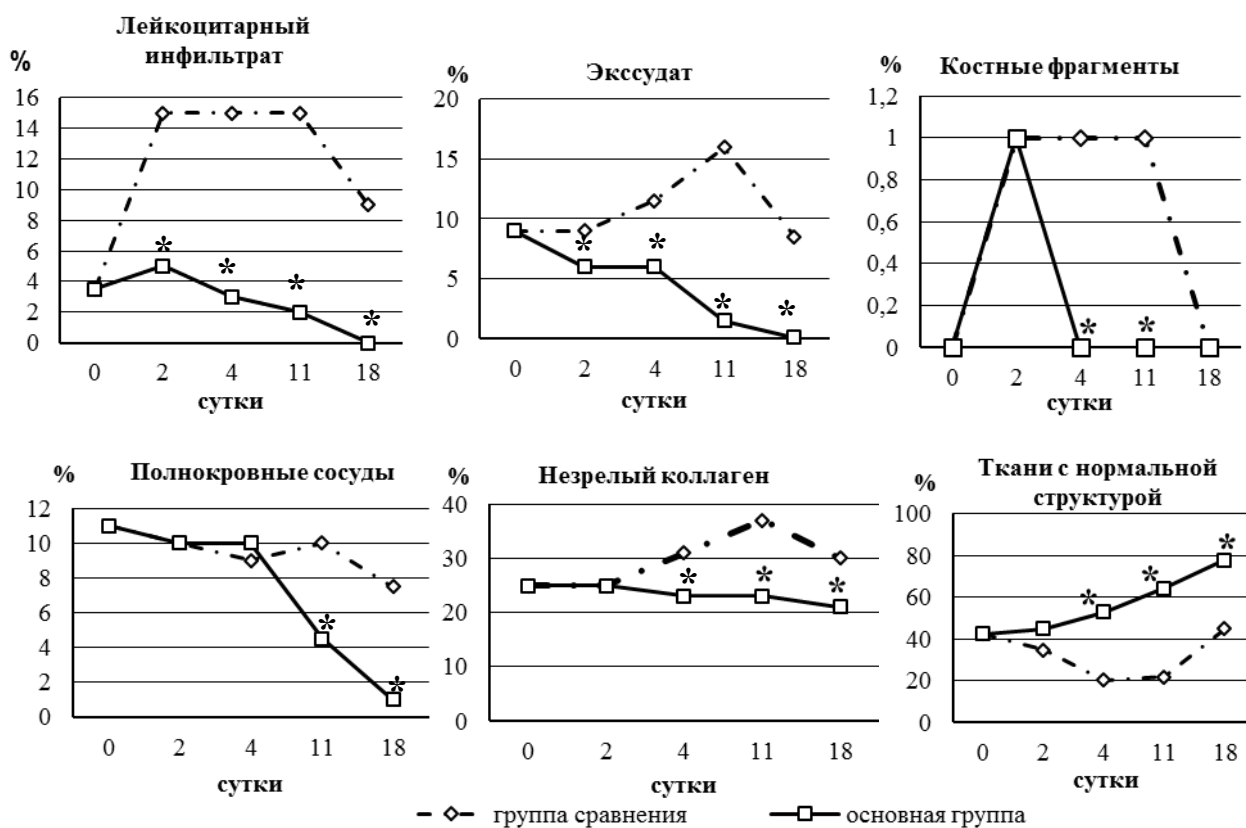


Рис. 4. Изменение объемной доли лейкоцитарного инфильтрата, костных фрагментов, скоплений экссудата, полнокровных сосудов, незрелого коллагена и тканей с нормальной структурой в динамике экспериментального пародонтита у животных основной группы и группы сравнения: * – статистически значимое отличие между группами

Представленные данные дают основание сделать однозначный вывод о том, что хлоргексидина биглюконат, несмотря на его высокую антибактериальную активность, усиливает вторичную альтерацию тканей и пролонгирует острый период воспаления до 11-х суток наблюдения, тогда как БСТ эффективно уменьшает вторичную альтерацию тканей и существенно сокращает продолжительность острого периода воспаления до 4-х суток наблюдения. Значимость этого вывода определяется тем, что события именно острого периода детерминируют дальнейший ход воспалительного процесса,

т.к. полноценное развитие репаративных процессов возможно только после полного очищения очага воспаления от тканевого детрита (Серов В.В. и др., 1995). Соответственно этим представлениям о закономерностях ауторегуляции воспалительного процесса у подопытных животных различались сроки репаративного периода воспаления и динамика его показателей.

Сравнение доли незрелого коллагена и тканей, сохранивших и восстановивших нормальную структуру, у животных основной группы и группы сравнения (рис. 4) показывает, что под действием БСТ доля незрелого коллагена практически удерживается на одном уровне, тогда как под действием хлоргексидинсодержащего геля она увеличивается и только после 11-х суток наблюдения начинает снижаться. При этом под действием БСТ уже со 2-х суток наблюдения происходит постепенное прогрессивное нарастание доли тканей с нормальной структурой, тогда как под действием хлоргексидина биглюконата этот показатель снижается до 4-х суток и только после 11-х суток начинает возрастать. Вероятно, это связано с эффектами бальзама БСТ, которые обеспечивают лучшую сохранность тканей пародонта на ранних этапах воспаления и ускорение восстановления структуры поврежденных тканей благодаря более активному созреванию новообразованного коллагена. Так, к 18-м суткам наблюдения доля восстановленных тканей в основной группе была выше, чем в группе сравнения, в 1,7 раза ($p < 0,001$) (рис. 4).

Таким образом, в условиях применения 0,06 %-го раствора хлоргексидина биглюконата для орошения пародонтальных карманов в процессе УЗ-скейлинга и хлоргексидинсодержащего геля для последующих аппликаций на поврежденные ткани пародонта острый период воспаления продолжался до 11-х суток наблюдения, и только после 11-х суток регистрировалось восстановление структуры поврежденных тканей, но к концу наблюдения их доля не превышала 45 %. В условиях применения БСТ для коррекции экспериментального пародонтита на всех этапах воспалительного процесса уже к 4-м суткам наблюдения завершался острый период воспаления и начинался репаративный период, восстановление структуры поврежденных тканей было

более быстрым и полным, и к концу наблюдения их доля составляла 78 %. Из этого следует, что при использовании БСТ на всех этапах экспериментального пародонтита его «лечение» оказалось более эффективным и менее продолжительным.

В соответствии с полученными результатами экспериментального исследования можно выделить ряд эффектов бальзама БСТ, изменяющих ход воспалительного процесса в тканях пародонта:

1) ограничение вторичной альтерации тканей (отсутствие раздражающего действия, антибактериальное действие, уменьшение инфильтрации тканей лейкоцитами);

2) более раннее улучшение гемодинамики в тканях пародонта (уменьшение полнокровия сосудов и экссудации);

3) оптимизация процессов синтеза и созревания коллагена;

4) ускорение репаративных процессов.

Основными механизмами реализации этих эффектов можно считать отсутствие у БСТ раздражающего (повреждающего) действия на воспаленные ткани и антимикробную активность БСТ в отношении пародонтопатогенной микрофлоры. Особенно важно, что эти механизмы в первую очередь специфически воздействуют на флогогенные агенты и реакции острого периода воспаления, запускающие ауторегуляторный каскад. Это, в свою очередь, ведет к оптимизации последующих событий: устранению отечности и уплотнению тканей, улучшению гемодинамики и созревания коллагена, ускорению восстановления структуры поврежденных тканей. Следует подчеркнуть, что в репаративный период указанные механизмы действия БСТ не менее важны, т.к. предупреждают вторичное инфицирование, повреждающее ткани и ведущее к хронизации воспалительного процесса.

Подводя итог анализа полученных результатов, можно сделать заключение о целесообразности применения БСТ в лечении пародонтита, поскольку его использование в качестве орошающей жидкости при УЗ-скейлинге с последующим курсом его трансмембранного диализа

демонстрирует высокие результаты, сокращает продолжительность воспалительного процесса в пародонте и минимизирует риск возникновения побочных эффектов.

ВЫВОДЫ

1. Антибактериальный эффект бальзама, содержащего комплекс монотерпеноидов, сопоставим с эффектом хлоргексидина биглюконата, т.к. действие бальзама является летальным для 91,6 % микрофлоры пародонтальных карманов, а хлоргексидина биглюконата – для 87,2 %.

2. В острый период экспериментального пародонтита воздействие бальзама, содержащего терпеноиды, не оказывает, в отличие от действия хлоргексидина биглюконата, раздражающего действия на воспаленные ткани и купирует вторичную альтерацию. Это подтверждается полным отсутствием костных отломков на 4-е сутки наблюдения, уменьшением лейкоцитарной инфильтрации на 83,4 % ($p < 0,001$) и доли экссудата на 40 % ($p < 0,001$), а также повышает сохранность тканей и восстановление их структуры (на 69 %, $p < 0,001$), что в совокупности свидетельствует о сокращении продолжительности острой фазы воспаления, которая под действием бальзама, содержащего терпеноиды, завершается к 4-м суткам, а при использовании хлоргексидина биглюконата – к 11-м суткам наблюдения.

3. В репаративный период экспериментального пародонтита бальзам, содержащий терпеноиды, оптимизирует восстановительные процессы, увеличивая к концу наблюдения долю тканей с нормальной структурой до 68 (60,5–71,0) %, тогда как при аппликациях хлоргексидинсодержащего геля доля таких тканей составляет только 45 (40,0–52,0) %.

4. Воздействие БСТ на ткани пародонта на всех этапах экспериментального пародонтита существенно сокращает продолжительность воспалительного процесса, ускоряя восстановление структуры 78 (74,5–80,0) % тканей за счет уменьшения их вторичной альтерации в острый период и ускорения созревания коллагена в репаративный период.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Бальзам, содержащий терпеноиды, – растительное средство в форме бальзама, представляющего собой связнодисперсную систему, содержит комплекс монотерпеноидов – изоборнилацетат (не менее 10 %), камфору, терпениол; эфирные масла хвойных растений, а также гелеобразующую основу, воду и стабилизаторы – бензиловый спирт и блоксополимер, рекомендуется в виде раствора на дистиллированной воде в соотношении 1 : 3. Данный раствор имеет плотность ($p = 1,001$), приближенную к плотности 0,06 %-го раствора хлоргексидина биглюконата ($p = 0,997$), обладает выраженным бактерицидным эффектом для микрофлоры пародонтальных карманов; его использование на всех этапах лечения экспериментального пародонтита быстро снижает долю экссудата, купирует лейкоцитарную инфильтрацию, вторичную альтерацию и деструкцию тканей, а также стимулирует репаративные процессы.

Проведенные исследования позволяют рекомендовать растительное средство, содержащее комплекс монотерпеноидов, для применения в клинике в комплексном лечении хронического пародонтита в качестве орошающей жидкости при скейлинге и кюретаже, а также для его последующего трансмембранного диализа в ткани пародонта.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лечение экспериментального пародонтита терпенсодержащим препаратом / М.В. Дударь, Л.С. Васильева, В.Д. Молоков // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 6. – С. 55–59.

2. Лечение экспериментального пародонтита у крыс препаратом Антиран / В.Д. Молоков, Л.С. Васильева, М.В. Дударь, Е.М. Казанкова // Теория и практика современной стоматологии: материалы VI регион. науч.-практ. конференции. – Иркутск, 2014. – С. 46–48.

3. Репаративные процессы в пародонте при использовании в лечении терпенсодержащего препарата / М.В. Дударь, Л.С. Васильева, В.Д. Молоков //

Инновационные технологии в практической стоматологии: сб. материалов науч.-практ. конференции. – Иркутск, 2014. – С. 28–31.

4. Роль этиологических факторов в развитии хронического генерализованного пародонтита / Е.М. Казанкова, М.В. Дударь, В.Д. Молоков // Теория и практика современной стоматологии: материалы VI регион. науч.-практ. конференции. – Иркутск, 2014. – С. 29–31.

5. Применение терпенсодержащего препарата в лечении экспериментального пародонтита / М.В. Дударь, Л.С. Васильева, В.Д. Молоков // Материалы 2-го Всерос. науч. форума студентов и молодых врачей стоматологической ассоциации России, посвященного 70-летию Великой Победы. – Барнаул, 2015. – С. 39–42.

6. Ультразвуковой кюретаж в комплексном лечении пародонтита / М.В. Дударь, В.Д. Молоков, Л.С. Васильева // Сб. материалов VII практ. конференции, посвященной 20-летию образования кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии ИГМАПО Минздрава России. – Иркутск, 2015. – С. 39–42.

7. Влияние терпенсодержащего препарата в сочетании с ультразвуковым кюретажем на репаративные процессы в тканях пародонта / М.В. Дударь, Л.С. Васильева, В.Д. Молоков // Врач-аспирант. – 2016. – № 2.2. – С. 230–236.

8. Современные направления медикаментозной терапии хронического генерализованного пародонтита / М.В. Дударь, Л.С. Васильева, В.Д. Молоков // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2016. – Т. 1, № 6. – С. 197–205.

9. Терапия экспериментального пародонтита терпенсодержащим препаратом в сочетании с ультразвуковым кюретажем / В.Д. Молоков, Л.С. Васильева, М.В. Дударь, Е.М. Казанкова // Актуальные проблемы и перспективы развития стоматологии в условиях Севера: сб. ст. межрегион. науч.-практ. конференции, посвященной 20-летию стоматологического отделения Медицинского института Северо-Восточного федерального

университета им. М.К. Аммосова / под ред. И.Д. Ушницкого. – Якутск, 2016. – С. 79–84.

10. Влияние терпенсодержащего растительного средства на репаративные процессы в динамике экспериментального пародонта / М.В. Дударь, Л.С. Васильева, В.Д. Молоков // Теория и практика современной стоматологии: сб. материалов IV Всерос. науч.-практ. конференции, посвященной 100-летию высшего образования в г. Иркутске (1919–2019) / под ред. Т.А. Гайдаровой. – Иркутск, 2019. – С. 193–197.

11. Пат. № 2690433 Рос. Федерация, МКП А61С 17/00, А61К 9/08, А61К 31/075, А61К 47/02, А61Р 31/00 Способ лечения пародонтита / М.В. Дударь, В.Д. Молоков, Л.С. Васильева; патентообладатель ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2018112540; заявл. 06.04.2018; опубл. 03.06.2019, Бюл. № 16. – 2 с.

12. Сравнительный анализ терапевтических эффектов терпеноидсодержащего растительного средства и хлоргексидина при экспериментальном пародонтите / М.В. Дударь, Л.С. Васильева, О.И. Тирская, В.Д. Молоков // Клиническая стоматология. – 2019. – № 4. – С. 46–49.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БСТ – бальзам, содержащий терпеноиды

КОЕ – колониеобразующие единицы

УЗ-скейлинг – ультразвуковой скейлинг

Научное издание

Дударь Марина Вячеславовна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ТЕРПЕНОИДСОДЕРЖАЩЕГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА
В ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПАРОДОНТИТА**

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано к печати 18.03.2020

Бумага офсетная. Печать цифровая.

Гарнитура Таймс. Формат 60 × 84 ¹/₁₆

Объем 1 усл.-печ. л. Тираж 100. Заказ №

Отпечатано в типографии: