

На правах рукописи

АКИМОВА СВЕТЛАНА АНАТОЛЬЕВНА

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ,
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ
БОЛЬНЫХ БЫСТРОПРОГРЕССИРУЮЩИМ ПАРОДОНТИТОМ**

14.01.14 Стоматология

**А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Саратов-2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент **Осипова Юлия Львовна**

Официальные оппоненты:

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

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

Ведущая организация:

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

Защита состоится «__» _____ 2021 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.094.04 при ФГБОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского Минздрава России, по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Б. Казачья, 112.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского Минздрава России и на сайте организации www.sgtmu.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Л. В. Музурова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Быстро прогрессирующий периодонтит – остается важной и сложной проблемой современной пародонтологии [Качесова Е. С., Шевченко Е. А., Успенская О. А., 2017]. Несмотря на то, что в настоящий момент этиология и патогенез заболеваний пародонта изучены достаточно хорошо, быстро прогрессирующее течение пародонтита, характеризующееся агрессивным инфекционно-воспалительным процессом, приводящим к потере альвеолярной кости, утрате зубов у лиц молодого возраста, требует дальнейшего изучения.

В настоящее время остается малоизученным вопрос о роли нарушений клеточного обновления и апоптоза при быстро прогрессирующем пародонтите (БПП). Анализ современной литературы показал, что выраженность нарушений процессов клеточного гомеостаза является универсальной патоморфологической характеристикой любого воспалительно-деструктивного процесса, что позволяет использовать показатели пролиферации и апоптоза в целях клинической диагностики, оценки результатов комплексного лечения, прогнозирования течения заболевания [Мащенко И. С., Гударьян А. А., Идашкина Н. Г., 2019].

Установлено, что патогенная микрофлора бактериального налета выступает в роли механизма активации и индукции каскада провоспалительных цитокинов, играющих ведущую роль в развитии постоянно текущего воспаления пародонта [Царев В. Н., Николаева Е. Н., Ипполитов Е. В., 2017].

Многие исследователи считают, что избыточность в системе цитокинов имеет большое значение именно при агрессивном и рефрактерном течении хронического пародонтита [Булкина Н. В., Ведяева А. П., 2012; Самигуллина Л. И., Таминдарова Р. Р., 2014].

Степень разработанности темы. Современная стоматология не располагает данными, отражающими взаимосвязь цитокинового состава десневой жидкости и процессов обновления эпителиоцитов в тканях парадонтального комплекса при быстро прогрессирующим пародонтитом.

Анализ литературных данных показал отсутствие исследований, посвященных диагностике быстро прогрессирующего пародонтита на основе сопоставления клиничко-рентгенологической картины с показателями индексов: пролиферации ki-67; bcl-2; апоптоза эпителия и содержания интерлейкина 1 β ; фактора некроза опухоли α ; трансформирующего фактора роста β 1 в парадонтальном кармане.

Изучение данного вопроса позволит сформировать критерии дифференциальной диагностики хронической и быстро прогрессирующей форм течения пародонтита, эффективности комплексной терапии и проведения повторных курсов лечения, что имеет особое значение для клинической стоматологии.

Все изложенное обусловило актуальность настоящего исследования и определило его цель.

Цель исследования: повышение эффективности диагностики быстро прогрессирующего пародонтита путем изучения показателей клеточного обновления тканей пародонта и цитокинового состава десневой жидкости.

Задачи исследования:

1. У больных быстро прогрессирующим пародонтитом определить маркеры апоптоза и клеточного обновления пародонта на основании показателей: индекс апоптоза p53; индекс пролиферации ki-67; индекс противоапоптозного белка bcl-2.

2. У пациентов с быстро прогрессирующим пародонтитом установить характер взаимосвязей между клиническим течением заболевания, показателями клеточного обновления и цитокиновым профилем содержимого

пародонтальных карманов (провоспалительных цитокинов – интерлейкина 1 β , фактора некроза опухоли α и противовоспалительного цитокина – трансформирующего фактора роста β 1).

3. Провести сравнительный анализ нарушений клеточной пролиферации, апоптотической гибели клеток, цитокинового профиля содержимого пародонтальных карманов у пациентов с хроническим течением генерализованного пародонтита и больных с быстро прогрессирующим пародонтитом в стадии обострения и ремиссии заболеваний.

4. На основании клинико-рентгенологических, иммунологических, морфологических и иммуногистохимических методов исследования у больных с хроническим и быстро прогрессирующим пародонтитом разработать алгоритм диагностических мероприятий, критерии ремиссии и определить факторы прогрессирования.

Научная новизна исследования. У пациентов с быстро прогрессирующим пародонтитом впервые установлены маркеры апоптоза и клеточного обновления (ki-67, bcl-2, p53) и их роль в течении данного заболевания.

Проведена сравнительная оценка динамических изменений клинических показателей, клеточного гомеостаза, цитокинового профиля десневой жидкости у пациентов с хроническим и быстро прогрессирующим пародонтитом.

Впервые на основе изучения показателей клеточного обновления эпителиоцитов десны, про- и противовоспалительных цитокинов жидкости пародонтальных карманов установлены диагностические и дифференциально-диагностические критерии течения генерализованного пародонтита, а также критерии ремиссии и обострения быстро прогрессирующего пародонтита.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования. Теоретическая значимость исследования определяется уточнением механизмов патогенеза быстро прогрессирующего пародонтита

с точки зрения влияния локального цитокинового дисбаланса на процессы клеточного обновления эпителиоцитов десны.

Для практического использования предложены критерии диагностической оценки течения воспалительного процесса, основанные на изучении маркеров клеточной пролиферации (Kki-67, Ibc1-2, Ip53), провоспалительных – интерлейкин 1β (IL- 1β), фактор некроза опухоли α (TNF- α) – и противовоспалительных (трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) цитокинов у больных быстро прогрессирующим пародонтитом.

Предложенный алгоритм комплексного обследования, основанный на результатах кластерного анализа, позволяет проводить дифференциальную диагностику хронического и быстро прогрессирующего пародонтита, оценить эффективность лечения в ближайшие и отдаленные сроки наблюдения.

Методология и методы диссертационного исследования. Диссертационное исследование соответствует принципам доказательной медицины. Дизайн исследования – открытое рандомизированное. Для достижения поставленных задач были проведены клинико-инструментальные, иммуногистохимические, иммунологические исследования с последующей статистической обработкой полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Быстро прогрессирующий пародонтит характеризуется угнетением клеточной пролиферации на фоне повышенной активности апоптоза эпителиоцитов десны. Изменение данных показателей коррелирует со степенью тяжести воспалительно-деструктивного процесса пародонта.

2. Смещение баланса цитокинов в сторону увеличения концентрации провоспалительных цитокинов, повышение активности апоптоза тесно связаны со степенью тяжести воспалительно-деструктивного процесса в тканях пародонта.

3. Определение показателей цитокинового состава десневой жидкости (IL-1 β , TNF- α , TGF- β 1) и индексов, характеризующих процессы клеточного обновления в пародонте (Iki-67, Ibc1-2, Ip53), можно использовать для дифференциальной диагностики хронического и быстро прогрессирующего пародонтитов. Динамическое изучение этих показателей позволяет прогнозировать группы риска по прогрессированию заболевания, а также оценить эффективность лечения.

Степень достоверности полученных результатов. Достоверность полученных в ходе исследования данных, установленных научных фактов и закономерностей подтверждается использованием современных клинических, лабораторных и статистических методов исследования.

Личное участие автора в получении результатов. Автором лично был выполнен анализ современной литературы российских и зарубежных авторов по теме диссертационного исследования. Автор проводила клиническое обследование пациентов и забор материала для иммунологических и иммуногистохимических исследований. Автором проведена статистическая обработка полученных данных, подготовка и оформление публикаций, результатов исследования, формулирование выводов и практических рекомендаций.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были представлены на Международной научно-практической конференции «Интеграционные процессы научно-технологического развития» (г. Белгород, 2017 г.); VII Международной научной конференции, посвященной 80-летию Пензенской области и 20-летию Медицинского института Пензенского государственного университета «Актуальные проблемы медицинской науки и образования» (г. Пенза, 2019 г.); VIII Международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2019» (г. Санкт-Петербург, 2019 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из которых четыре статьи – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки

России, одна статья в журнале, входящем в международную базу цитирования Web of Science.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты диссертационного исследования внедрены в учебную и научную работу кафедры стоматологии терапевтической ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России; в учебную работу кафедры стоматологии ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет».

Результаты внедрены в практику лечебной работы Университетской клинической Больницы № 1 им. С. Р. Миротворцева; стоматологической клиники факультета стоматологии ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет».

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав, посвященных результатам собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Библиографический перечень включает 161 источник, из которых 100 отечественных и 61 зарубежный. Диссертационная работа изложена на 139 страницах машинописного текста, иллюстрирована 50 рисунками и 18 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Диссертационное исследование проводилось на базе стоматологической клиники при кафедре «Стоматология» Медицинского института ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» в период с 2016 по 2020 г.

В исследовании приняли участие 100 добровольцев, 40 из которых – пациенты с БПП (основная группа), 40 пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) (группа сравнения), и 20 человек имели интактный пародонт (контрольная группа).

Критерии включения: добровольцы в возрасте от 25 до 45 лет, подтвержденный диагноз ХГП и БПП или интактный пародонт, наличие добровольного информированного согласия.

Критерии исключения: отказ пациента; имеющиеся в полости рта зубочелюстные аномалии и ортодонтические конструкции; инфекционные заболевания; опухолевые процессы любой локализации; патология сердечно-сосудистой системы; сахарный диабет; беременность; период лактации.

Дизайн исследования – открытое рандомизированное. На первом этапе исследования всем участникам проведено комплексное стоматологическое обследование в соответствии с клиническими рекомендациями (протоколы лечения) при диагнозе «пародонтит». Клиническое исследование тканей пародонта и гигиенического состояния полости рта осуществлялось с применением индексных показателей: ОНI-s (Green J. C., Vermillion J. R., 1964), РМА (Parma, 1960), PI (Russel A. L., 1956), индекс Muhlemann в модификации (Cowell R. et al., 1975; Flesar T. J., 1980). Всем пациентам была проведена рентгенологическая диагностика зубочелюстной системы.

Определение содержания цитокинов IL-1 β , TNF- α , TGF- β 1 в образцах десневой жидкости проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием реактивов фирмы Bender MedSystems.

Изучение показателей клеточного обновления эпителиоцитов пародонта (Ki-67, bcl-2, p53) проводилось иммуногистохимическим методом с применением моноклональных мышиных антител к белку ki-67 (MB-1, Ventana), bcl-2 ((124) M. Cell) и к протеину p53 (Spring Bio Science, USA) в разведении 1 : 200. Индекс ki-67 иммунопозитивных клеток определяли по формуле $I_{ki-67} (\%) = \frac{\text{число положительно окрашенных ядер клеток}}{\text{общее количество подсчитанных клеток}} \times 100 \%$. Индекс экспрессии bcl-2 на срезе оценивали по факту окраски иммунопозитивных клеток маркером bcl-2 среди общего числа клеток $\times 100 \%$. Гибель клеток в форме апоптоза определяли по наличию экспрессии ядерного протеина p53

как маркера апоптотического процесса. Индекс p53 подсчитывался по формуле: $Ip53 (\%) = N (\text{число апоптозных ядер, окрашенных методом импрегнации}) / N (\text{общее число ядер}) \times 100 \%$.

Лечение ХГП и БПП проводилось по стандартной схеме. Комплексное лечение включало: обучение пациентов индивидуальной гигиене; профессиональная гигиена полости рта; шинирование подвижных зубов; избирательное пришлифовывание зубов. Для проведения местной терапии применялись комбинированные препараты хлоргексидина биглюконата и метранидазола. Хирургическое лечение – проведение лоскутной операции по методике Рамфьорда с применением остеозамещающего материала и резорбируемой двухслойной коллагеновой мембраны. Всем пациентам была рекомендована системная антибиотикотерапия с использованием комбинированных препаратов группы фторхинолонов и тинидазола. Оценка эффективности комплексной терапии проводилась спустя 1, 3, 6 месяцев после проведенного лечения.

Статистический анализ результатов осуществлялся при помощи пакета прикладных программ SPSS version 21, Microsoft Excel 2010. Для подтверждения нормальности распределения всех параметров наблюдений были использованы тесты Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Для определения различий между группами был использован тест Крускала – Уоллиса. Корреляционные взаимодействия между величинами определялись непараметрическими тестами Спирмана.

Результаты собственных исследований. Участники исследования из группы контроля не предъявляли жалоб, связанных с патологией тканей пародонта. Пациенты и с БПП, и с ХГП предъявляли жалобы на кровоточивость десен, неприятные ощущения и боль в деснах, периодическое гноетечение из карманов, подвижность зубов, однако выраженность и частота проявлений данных симптомов различалась, что находило отражение в значениях индексов клинической оценки состояния тканей пародонта.

У пациентов с БПП интенсивность воспаления пародонта по результатам средних значений индекса РМА была достоверно ниже ($59,95 \pm 0,11$ %), чем при ХГП ($70 \pm 8,11$ %) ($p < 0,05$). Обращает на себя внимание тот факт, что индексная оценка PI $6,15 \pm 0,98$ выше, чем у пациентов с ХГП ($5,37 \pm 0,9$). Данный факт свидетельствует о несоответствии выраженности клинических признаков воспаления и степени деструкции костной ткани при БПП. При этом достоверных различий в уровне гигиены у пациентов с БПП (ОНИ-с $2,84 \pm 1,05$) и с ХГП (ОНИ-с $3,11 \pm 0,35$) не выявлено, в обоих случаях гигиенический статус оценивался как плохой.

Результаты иммуногистохимических исследований представлены в табл. 1. Нами было выявлено, что у пациентов с БПП Iki-67 был равен $3,1 \pm 1,04$ %, это в 2,8 раза меньше контрольных значений ($8,78 \pm 0,31$ %), у пациентов из группы сравнения данный показатель составлял $8,51 \pm 1,61$ %. На рис. 1 и 2 представлены микрофотографии, отражающие степень экспрессии ki-67 при БПП и хроническом генерализованном пародонтите соответственно. При этом показатели Ibc1-2 в группе пациентов с БПП были ниже контрольных значений в 2,6 раза и составили $1,16 \pm 0,31$ %, в группе пациентов с ХГП данный показатель был равен $4,76 \pm 0,73$ %. На рис. 3 и 4 представлены микрофотографии, отражающие степень экспрессии Ibc1-2 при БПП и ХГП соответственно.

Таблица 1

Результаты иммуногистохимического анализа пролиферативной активности эпителиоцитов десны до лечения (%) ($M \pm m^2$)

Индексный показатель (%)	Пациенты с БПП, n = 40	Пациенты с ХГП, n = 40	Группа контроля, n = 20
Iki-67	$3,1 \pm 1,04$ ' "	$8,51 \pm 1,61$	$8,78 \pm 0,31$
Ibc1-2	$1,16 \pm 0,31$ ' "	$4,76 \pm 0,73$ '	$3,03 \pm 0,14$
Ip -53	$2,39 \pm 0,64$ ' "	$1,28 \pm 0,37$ '	$0,4 \pm 0,03$

Примечание: ' – различия достоверны по сравнению с группой контроля (тест Крускала – Уоллиса, $p < 0,05$); " – различия достоверны по сравнению с группой пациентов с ХГП (тест Крускала – Уоллиса, $p < 0,05$).

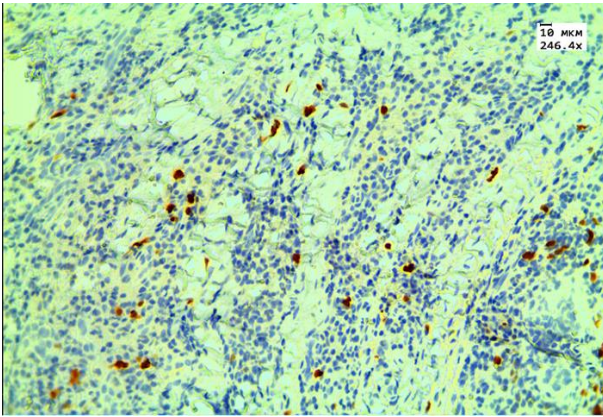


Рис. 1. Пациент А., 37 лет. Диагноз: быстро прогрессирующий пародонтит тяжелой степени. Биоптат десны. Экспрессия антитела к ki-67 в собственной пластинке слизистой оболочки. Иммуногистохимическая реакция с антителом к ki-67. Ув. 246,4

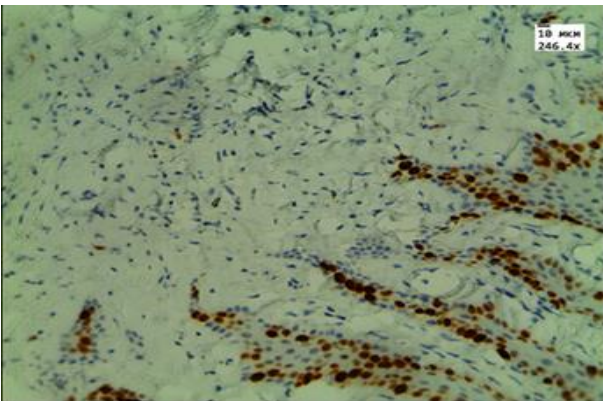


Рис. 2. Пациент Б., 44 года. Диагноз: хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени. Биоптат десны. Экспрессия антитела к ki-67 в базальной мембране эпителия. Иммуногистохимическая реакция с антителом к ki-67. Ув. 246,4

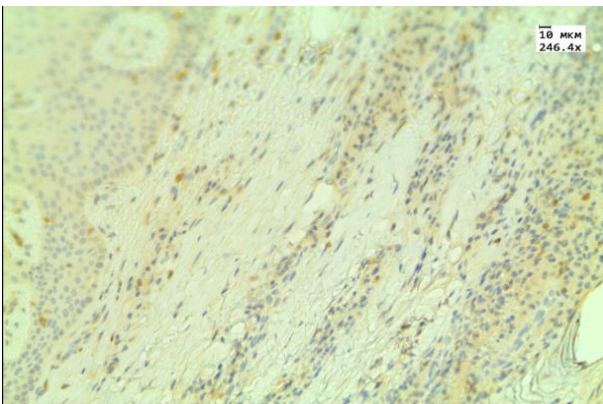


Рис. 3. Пациент А., 37 лет. Диагноз: быстро прогрессирующий пародонтит тяжелой степени. Биоптат десны. Экспрессия антитела к bcl-2 в собственной пластинке слизистой оболочки. Иммуногистохимическая реакция с антителом к bcl-2. Ув. 246,4

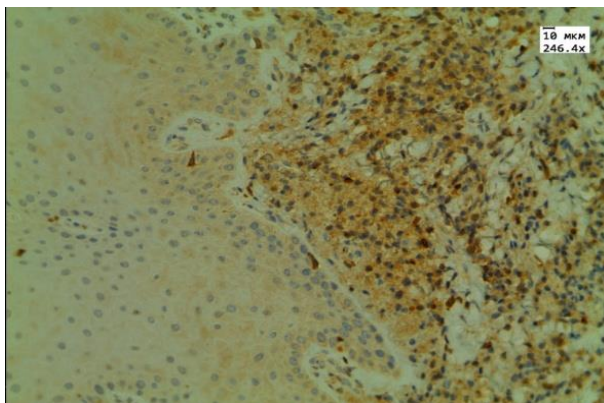


Рис. 4. Пациент С., 43 года. Диагноз: хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени. Биоптат десны. Экспрессия антитела к bcl-2 в эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки. Иммуногистохимическая реакция с антителом к bcl-2. Ув. 246,4

Индекс p53, характеризующий процесс апоптоза в тканях, в группе пациентов с БПП в шесть раз превышал значения при интактном пародонте ($2,39 \pm 0,64$ %). Степень экспрессии p53 при БПП и ХГП представлена на рис. 5, 6.

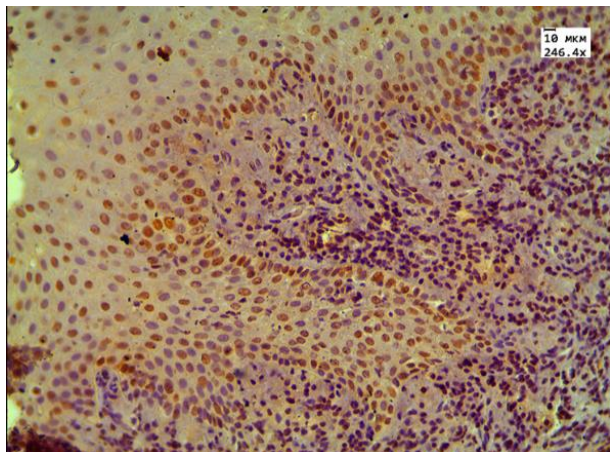


Рис. 5. Пациент К., 33 года. Диагноз: быстро прогрессирующий пародонтит тяжелой степени. Биоптат десны. Экспрессия антитела к p53 в эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки. Иммуногистохимическая реакция с антителом к p53. Ув. 246,4

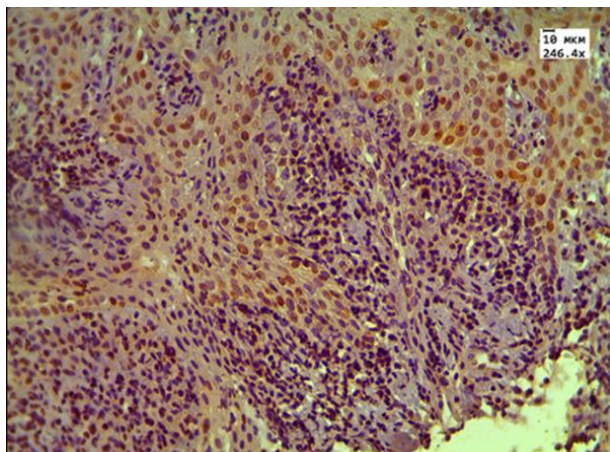


Рис. 6. Пациент Б., 44 года. Диагноз: хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести. Биоптат десны. Экспрессия антитела к p53 в эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки. Иммуногистохимическая реакция с антителом к p53. Ув. 246,4

Соотношение индексов пролиферации и апоптоза при БПП составляло 1 : 6,6, в то время как в группе контроля данное соотношение характеризовалось как 1 : 22. В группе сравнения этот показатель был равен $1,28 \pm 0,37$ %, что в 1,9 раза превышало контрольные значения и при сопоставимых значениях индекса пролиферации также обуславливало умеренное преобладание процессов деструкции тканей над процессами клеточного обновления. Результаты исследования дают основание полагать, что тотальная деструкция костной ткани при БПП обусловлена выраженным превалированием процессов апоптоза над процессами пролиферации.

В ходе корреляционного анализа была установлена взаимосвязь между индексами клинической оценки состояния полости рта и индексами

пролиферации и апоптоза. Как при БПП, так и при ХГП выявлялась обратная корреляционная зависимость между Iki-67 и индексами ОНІ-s (r (БПП) = $-0,55$, r (ХГП) = $-0,731$), РМА (r (БПП) = $-0,699$, r (ХГП) = $-0,852$) и РІ (r (БПП) = $-0,785$, r (ХГП) = $-0,82$). В свою очередь Ip53 характеризовался прямым корреляционным взаимодействием с индексами ОНІ-s (r (БПП) = $0,538$, r (ХГП) = $0,851$), РМА (r (БПП) = $0,706$, r (ХГП) = $0,936$) и РІ (r (БПП) = $0,784$, r (ХГП) = $0,868$). Сила корреляционных связей индексов апоптоза и пролиферации с индексом гигиены подтверждает ключевую роль патогенной микрофлоры в патогенезе ХГП в отличие от БПП.

Иммунологический анализ десневой жидкости (табл. 2) показал повышение в 4,1 раза концентрации провоспалительного цитокина IL-1 β в группе пациентов с БПП и в 2,2 раза у пациентов с ХГП относительно контрольных значений. У пациентов с БПП концентрация IL-1 β составила $439,56 \pm 45,47$ пкг/мл, что превышает значения, полученные в группе сравнения ($230,23 \pm 34,15$ пкг/мл) в 1,9 раза, и свидетельствует о более выраженном повышении концентрации данного цитокина при БПП.

Таблица 2

**Содержание цитокинов в образцах десневой жидкости
обследуемых до лечения (пкг/мл) ($M \pm m^2$)**

Показатель	Пациенты с БПП, n = 40	Пациенты с ХГП, n = 40	Группа контроля, n = 20
IL-1 β	$439,56 \pm 45,47$ ' "	$230,23 \pm 34,15$ '	$107,61 \pm 14,3$
TNF α	$778 \pm 43,78$ ' "	$415,57 \pm 50,37$ '	$75,06 \pm 11,53$
TGF- β 1	$239,98 \pm 29,56$ ' "	$193,8 \pm 36,68$ '	$97,34 \pm 19,83$

Примечание: ' – различия достоверны по сравнению с группой контроля (тест Крускала – Уоллиса, $p < 0,05$); " – различия достоверны по сравнению с группой пациентов с ХГП (тест Крускала – Уоллиса, $p < 0,05$).

По результатам иммунологического анализа было выявлено достоверное повышение концентрации TNF- α как в основной группе, так и в группе сравнения ($p < 0,05$). Обращает на себя внимание тот факт, что

в жидкости пародонтальных карманов при БПП средние значения концентрации TNF- α в 10 раз превышали контрольные цифры. Концентрация проявляющего иммуносупрессорную активность TGF- β 1 при БПП и ХГП в два раза превышала показатели интактного пародонта.

В ходе исследования было установлено, что соотношение провоспалительных и противовоспалительных фракций характеризовалось выраженным дисбалансом по сравнению с контролем. В случае интактного пародонта соотношение концентраций IL-1 β и TGF- β 1 составило 1 : 1, при этом в группе пациентов с БПП данное соотношение оценивалось как 1,8 : 1, что определяет смещение равновесия в сторону увеличения концентрации IL-1 β , при ХГП данное соотношение составило 1,2 : 1.

На основании полученных данных можно заключить, что нарушение баланса цитокинов в десневой жидкости при воспалительных заболеваниях пародонта характеризуется смещением равновесия в сторону увеличения концентрации провоспалительных фракций, что способствует прогрессированию воспалительно-деструктивных процессов в пародонте. Степень деструкции тканей тем выраженнее, чем выше концентрации IL-1 β , TNF- α . Данный факт подтверждается наличием прямой корреляционной зависимости между содержанием IL-1 β и значениями индекса PI как при БПП ($r = 0,83$), так и при ХГП ($r = 0,84$).

Выявленный цитокиновый дисбаланс состава десневой жидкости у пациентов с БПП подтверждает ключевое влияние дезорганизации иммунных реакций, наряду с влиянием агрессивной микрофлоры, на развитие данной патологии. На фоне цитокинового дисбаланса наблюдается снижение резистентности тканей пародонта и нарушение процессов клеточного обновления эпителиоцитов десны, что подтверждалось результатами иммуногистохимических исследований.

Через один месяц после проведенного лечения большинство пациентов с БПП и ХГП отмечали улучшение состояния тканей пародонта. Оценка

гигиенического статуса пациентов с БПП и ХГП по индексу ОНI-с соответствовала удовлетворительному уровню гигиены и не имела достоверных различий. Клинически определялось уменьшение воспалительного процесса в пародонте, однако у пациентов с БПП средние значения индексов РМА ($32,82 \pm 8,88$ %) достоверно превышали значения в группе с ХГП ($10,02 \pm 8,11$ %) ($p < 0,05$).

Анализ динамики изменений иммуногистохимических показателей (табл. 3) и цитокинового профиля десневой жидкости позволяет оценить эффективность (табл. 4) стандартной терапии пародонтита через один, три, шесть месяцев. Через один месяц после проведенного лечения активация репаративных процессов отмечена как при БПП, так и при ХГП. В основной группе Iki-67 был равен $5,17 \pm 1,51$ %, Ip53 = $1,33 \pm 0,67$ % при значениях Ibc1-2, равных $1,89 \pm 0,43$ %.

Таблица 3

Динамика показателей клеточного обновления эпителиоцитов десны через 1, 3 и 6 месяцев после лечения (%) ($M \pm m^2$)

Сроки проведения исследования	Показатель	I группа (БПП), n = 40	II группа (ХГП), n = 40	III группа (контроль), n = 20
Через 1 месяц после лечения	Iki-67	$5,17 \pm 1,51$ ' "	$11,1 \pm 1,18$ '	$8,78 \pm 0,31$
	Ibc1-2	$1,89 \pm 0,43$ ' "	$3,28 \pm 0,23$	$3,03 \pm 0,14$
	Ip53	$1,33 \pm 0,67$ ' "	$0,42 \pm 0,06$	$0,4 \pm 0,03$
Через 3 месяца после лечения	Iki-67	$4,79 \pm 1,9$ ' "	$10,42 \pm 0,95$ '	$8,78 \pm 0,31$
	Ibc1-2	$1,6 \pm 0,69$ ' "	$2,93 \pm 0,32$	$3,03 \pm 0,14$
	Ip53	$1,75 \pm 0,71$ ' "	$0,39 \pm 0,09$	$0,4 \pm 0,03$
Через 6 месяцев после лечения	Iki-67	$3,13 \pm 1,06$ ' "	$9,59 \pm 0,85$ '	$8,78 \pm 0,31$
	Ibc1-2	$1,21 \pm 0,3$ ' "	$3,2 \pm 0,59$	$3,03 \pm 0,14$
	Ip53	$2,41 \pm 0,68$ ' "	$0,38 \pm 0,12$	$0,4 \pm 0,03$

Примечание: ' – различия достоверны по сравнению с группой контроля (тест Крускала – Уоллиса, $p < 0,05$); " – различия достоверны по сравнению с группой пациентов с ХГП (тест Крускала – Уоллиса, $p < 0,05$).

В группе сравнения Iki-67 составил $11,1 \pm 1,18$ %, что достоверно выше значений, полученных при БПП ($p < 0,05$), Ip53 был равен

0,42 ± 0,06 %, Іbcl-2 – 3,28 ± 0,23 %. Полученные данные позволяют заключить, что репаративный потенциал тканей пародонта при БПП оценивался как более низкий по сравнению с ХГП.

Таблица 4

Динамика показателей цитокинового состава десневой жидкости через 1, 3 и 6 месяцев после лечения (пкг/мл) (M ± m²)

Сроки проведения исследования	Показатель	I группа (БПП), n = 40	II группа (ХГП), n = 40	III группа (контроль), n = 20
Через 1 месяц после лечения	IL1β	241,75 ± 48,33 ' "	147,05 ± 22,89 ' "	107,61 ± 14,3
	TNFα	317,37 ± 51,88 ' "	117,95 ± 19,61 ' "	75,06 ± 11,53
	TGF β	216,07 ± 37,82 ' "	151,79 ± 28,03 ' "	97,34 ± 19,83
Через 3 месяца после лечения	IL1β	268,02 ± 68,18 ' "	170,4 ± 31,95 ' "	107,61 ± 14,3
	TNFα	412,67 ± 84,18 ' "	137,12 ± 26,72 ' "	75,06 ± 11,53
	TGFβ1	200,95 ± 46,42 ' "	122,35 ± 20,27 ' "	97,34 ± 19,83
Через 6 месяцев после лечения	IL1β	413,31 ± 60,37 ' "	191,17 ± 45,31 ' "	107,61 ± 14,3
	TNFα	753,83 ± 60,6 ' "	160,37 ± 51,16 ' "	75,06 ± 11,53
	TGFβ1	227,59 ± 42,71 ' "	124,48 ± 29,73 ' "	97,34 ± 19,83

Примечание: ' – различия достоверны по сравнению с группой контроля (тест Крускала – Уоллиса, p < 0,05); " – различия достоверны по сравнению с группой пациентов с ХГП (тест Крускала – Уоллиса, p < 0,05).

Через один месяц после проведенного лечения у пациентов с БПП и ХГП наблюдалось снижение содержания IL-1β, TNFα. Иммунологически БПП характеризовался снижением содержания провоспалительных фракций, но показатели не достигали контрольных значений. В то время как при ХГП концентрации IL-1β, TNFα приближались к контролю. На фоне снижения содержания провоспалительных цитокинов в обеих группах концентрация противовоспалительного цитокина TGF-β1 оставалась повышенной, что определяло положительную динамику течения воспалительного процесса сразу после проведения комплексной терапии.

Система цитокинов играет немаловажную роль в регуляции процессов клеточного обновления. Результаты корреляционного анализа

свидетельствуют о наличии прямой взаимосвязи концентрации IL-1 β и индекса апоптоза как при БПП ($r = 0,769$), так и при ХГП ($r = 0,845$). Также была выявлена обратная корреляция между концентрацией IL-1 β и Iki-67, при БПП коэффициент корреляции был равен $-0,668$, при ХГП $r = -0,838$.

Таким образом, увеличение содержания провоспалительных цитокинов соотносится с активацией процессов деструкции тканей пародонтального комплекса.

Через три и шесть месяцев при схожем гигиеническом статусе в обеих группах наблюдался рост значений пародонтальных индексов. В группе пациентов с БПП ремиссия через три месяца после лечения определена у 40% пациентов, однако через шесть месяцев обострение воспалительного процесса наблюдалось у всех пациентов данной группы (100 %). Индекс РМА находился в прямой корреляционной зависимости от индекса гигиены ОНI-s ($r = 0,56$, $r = 0,66$, через три и шесть месяцев соответственно), однако сила этой взаимосвязи была слабее, чем в группе сравнения, где корреляция между данными показателями через три месяца составила $r = 0,93$, через шесть месяцев $r = 0,96$. При этом ремиссия у пациентов с ХГП через три месяца составляла 86 %, через шесть месяцев – 75 %. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в патогенезе БПП, помимо микробного фактора, принимает участие компонент, обусловленный нарушением иммунологической реактивности организма.

Иммуногистохимические исследования показали, что через три, шесть месяцев в основной группе происходило постепенное снижение индекса пролиферации до $4,79 \pm 1,9$ и $3,13 \pm 1,06$ % соответственно. Количественные показатели противоапоптозного белка через шесть месяцев достигли первоначальных значений (Ibc1-2 = $1,21 \pm 0,3$ %). Через три месяца значения индекса апоптоза были равны $1,75 \pm 0,71$ %, а через шесть месяцев вернулись к исходным значениям (Ip53 = $2,41 \pm 0,68$ %). В группе сравнения Iki-67 также снижался и по истечении шести месяцев достигал контрольных

значений, при этом Ir53 через три и шесть месяцев соответствовал значениям контрольной группы. Данный факт свидетельствует о стабилизации процесса в группе пациентов с ХГП, в то время как в основной группе лечение было малоэффективным и стойкой клинической ремиссии достигнуть не удалось.

Через три и шесть месяцев в десневой жидкости пациентов с БПП наблюдался выраженный рост концентрации провоспалительных цитокинов и увеличение концентрации противовоспалительного цитокина TGF- β 1. Данный факт позволяет констатировать неблагоприятную динамику процесса. Через шесть месяцев признаки обострения заболевания были отмечены у 100 % пациентов этой группы, включая пациентов, тщательно соблюдающих рекомендации по гигиеническому уходу за полостью рта.

В группе пациентов с ХГП через три, шесть месяцев также наблюдался рост содержания провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF α на фоне компенсаторного увеличения содержания противовоспалительного TGF- β 1. При этом увеличение содержания провоспалительных фракций связано с ухудшением гигиенического статуса полости рта как основного фактора поддержания здоровья пародонта при ХГП.

Нарушения клеточного гомеостаза БПП характеризовалось снижением пролиферативной активности эпителия на фоне высоких концентраций провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF α , нарастанием гибели клеток в форме апоптоза, ростом показателей концентрации TGF- β через три и шесть месяцев, что исключает возможность стабилизации процесса, способствует развитию обострений и обуславливает низкую эффективность проводимого лечения.

На начальных этапах воспаления в результате включения компенсаторных механизмов происходит активация пролиферативных процессов, однако с увеличением тяжести воспалительных явлений

наблюдается угнетение процессов клеточного деления. Так, БПП характеризуется тотальной дезорганизацией механизмов репарации, сопровождающейся угнетением пролиферации как ключевого звена процесса восстановления структуры ткани.

На основании полученных данных можно заключить, что быстро прогрессирующий пародонтит патогенетически характеризуется цитокиновым дисбалансом десневой жидкости в пользу провоспалительных фракций с преобладанием процессов апоптоза над процессами пролиферации.

Показатели иммунологического исследования десневой жидкости (IL-1 β , TNF α , TGF- β) и иммуногистохимического исследования (Iki-67, Ibc1-2, Ip53) эпителиоцитов пародонта дают возможность верифицировать хроническую и быстро прогрессирующую формы течения пародонтита и оценивать эффективность лечения.

Кластерный анализ данных как алгоритм дифференциальной диагностики быстро прогрессирующего пародонтита. Показатели, изучаемые в ходе исследования, находились в корреляционной взаимосвязи. Данный факт исключил возможность использования стандартных методов моделирования. В связи с этим был применен кластерный анализ, позволяющий на основании полученных параметров классифицировать пациентов по диагнозам.

В кластерный анализ были включены следующие параметры: возраст пациента, показатели IL-1 β , TNF- α , TGF- β 1, Iki-67, Ibc1-2, Ip53, индексы РМА, PI, Muhlemann. По данным показателей пациенты были безошибочно распределены на две группы соответственно их действительным клиническим диагнозам. На рис. 7 изображена двумерная проекция кластерного распределения пациентов по диагнозам согласно выбранным параметрам.

Согласно величине общей дисперсии в наборе данных, которая объяснялась кластеризацией и составляла 86,4 %, данная модель являлась эффективной.

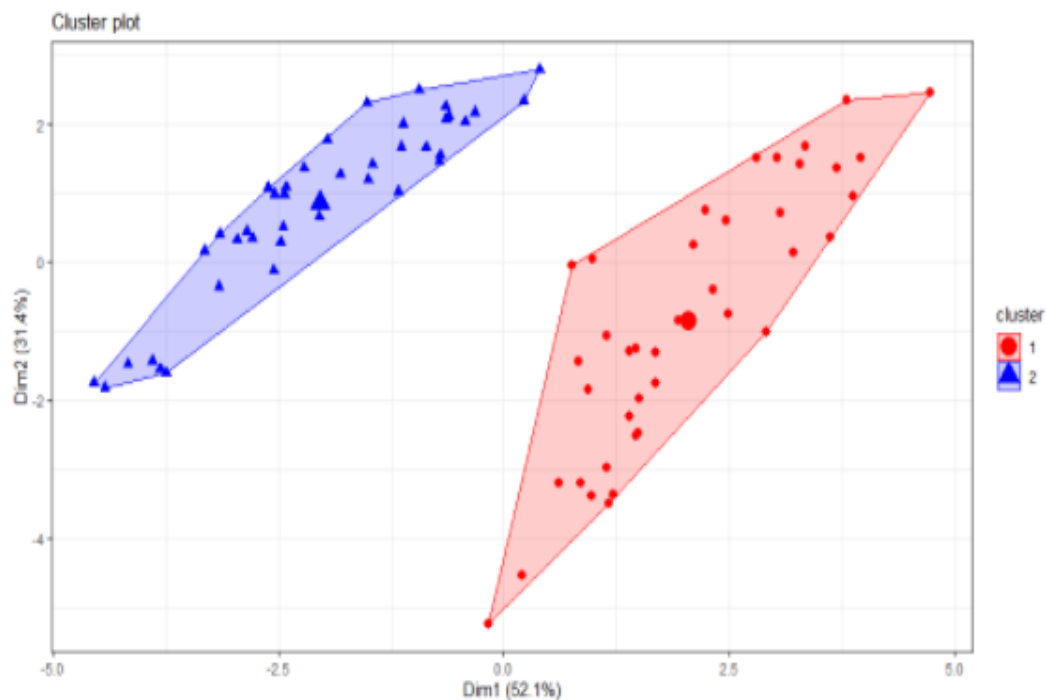


Рис. 7. Двумерная проекция кластерного распределения пациентов по диагнозам: 1 – основная группа, 2 – группа сравнения

Учитывая прогрессирующий характер течения БПП, целесообразно проводить обследование и лечение пациентов с использованием разработанного нами алгоритма диагностики пациентов с быстро прогрессирующим пародонтитом (рис. 8), на основе показателей цитокинового состава десневой жидкости (IL-1 β , TNF- α , TGF- β 1) и индексов, характеризующих процессы клеточного обновления в пародонте (Iki-67, Ibc1-2, Ip53).

Применение алгоритма позволит обоснованно подходить к определению групп риска по прогрессированию заболевания и продолжительности терапии.

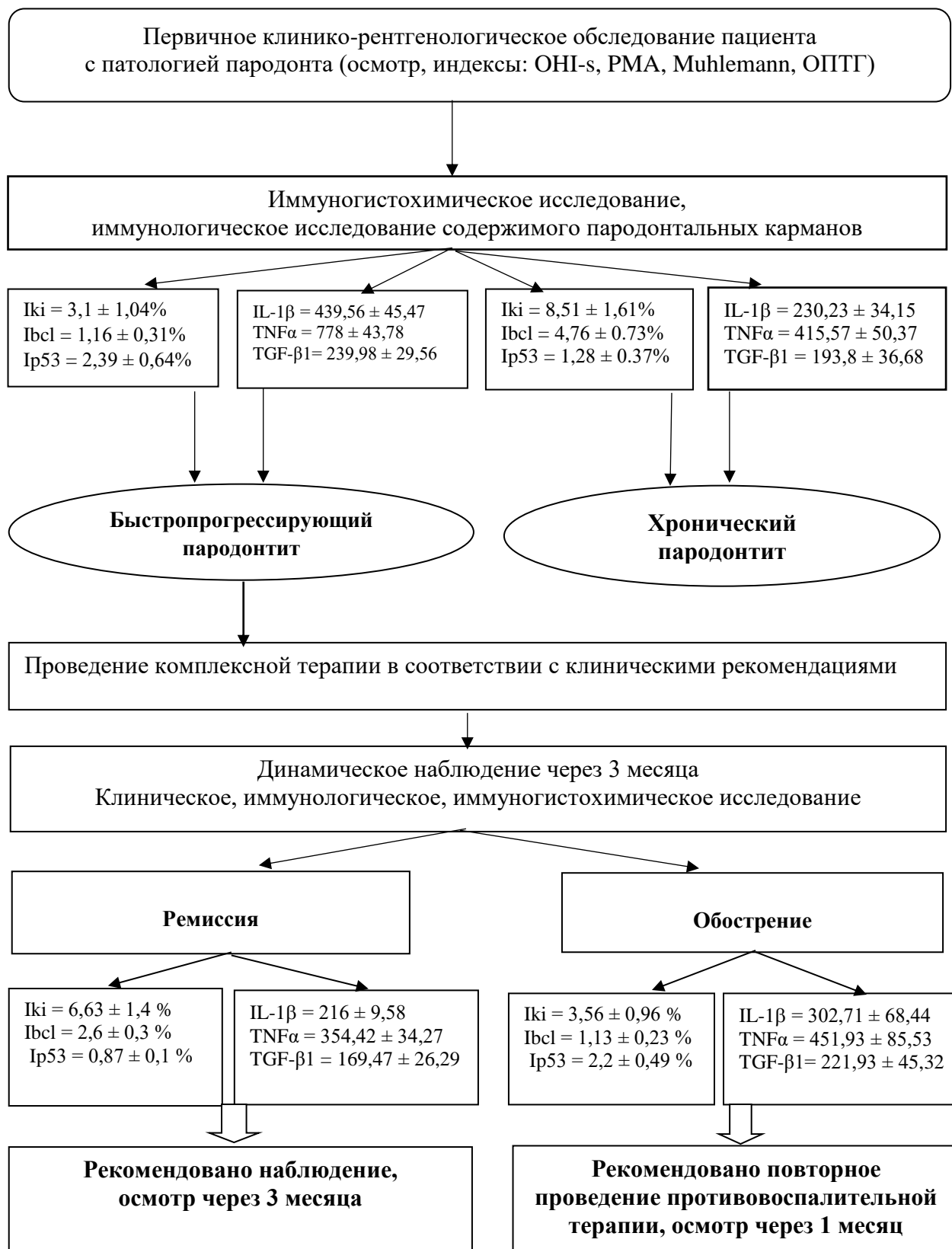


Рис. 8. Алгоритм диагностики, дифференциальной диагностики и оценки результатов лечения пациентов с быстропроgressирующим пародонтитом

ВЫВОДЫ:

1. Быстропрогрессирующий пародонтит протекает с увеличением активности апоптоза (p53) на фоне снижения показателей клеточной пролиферации эпителиоцитов десны (ki-67) и противоапоптозного белка (bcl-2).

2. Активность воспалительно-деструктивных процессов при быстропрогрессирующем пародонтите тесно связана с высокими показателями индекса апоптоза p53, имеющего положительные корреляционные связи с провоспалительными цитокинами IL-1 β и TNF- α ($r = 0,939$ и $r = 0,931$) и увеличением содержания IL-1 β и TNF- α в 1,9 раза и TGF- β 1 в 1,2 раза по сравнению с хроническим пародонтитом. Ингибирующее воздействие на процессы пролиферации оказывает повышение концентрации IL-1 β и TNF- α в десневой жидкости, о чем свидетельствует отрицательная корреляционная зависимость между индексом пролиферации ki-67 и цитокинами IL-1 β ($r = -0,935$) и TNF- α ($r = -0,943$).

3. Применение кластерного анализа с использованием клинических и дополнительных диагностических критериев (возраста пациента, индексов РМА, PI, Muhlemann, показателей IL-1 β , TNF- α , TGF- β 1, индексов ki-67, bcl-2, p53) позволяет провести дифференциальную диагностику состояния пациентов с быстропрогрессирующим и хроническим течением заболевания.

4. Критериями достижения ремиссии быстропрогрессирующего пародонтита служат высокие показатели клеточной пролиферации индекса ki-67 и противоапоптозного протеина bcl-2, снижение индекса p53, снижение содержания провоспалительных фракций (IL-1 β , TNF- α) относительно противовоспалительного цитокина TGF- β 1 через один месяц от начала лечения. Неблагоприятными патогенетическими факторами прогрессирования воспалительного процесса при быстропрогрессирующем пародонтите следует считать снижение показателей индекса ki-67, индекса bcl-2 и увеличение индекса p53.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. Для стоматологической практики разработан алгоритм обследования и наблюдения пациентов с хроническим и быстро прогрессирующим пародонтитом на основании кластерного анализа, клинико-рентгенологических, иммунологических, морфологических и иммуногистохимических показателей, позволяющих провести дифференциальную диагностику заболеваний, оценить эффективность лечения в ближайшие и отдаленные сроки наблюдения.

2. Информативными диагностическими показателями нарушения клеточного гомеостаза и цитокинового баланса у пациентов с быстро прогрессирующим пародонтитом являются: индекс пролиферации ki-67, индекс противоапоптозного протеина bcl-2, индекс апоптоза p53, IL-1 β , TNF- α , TGF- β 1.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Значение показателей ki-67, bcl-2 и индекса апоптоза в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта у больных с сочетанной патологией / Ю. Л. Осипова, С. А. Акимова, Л. Э. Тонакян // Интеграционные процессы мирового научно-технологического развития: сб. науч. тр. по материалам Междунар. науч.-практ. конф. – СПб, 2017. – С. 132–134.

2. Показатели клеточного обновления и апоптоз эпителиоцитов десны у больных быстро прогрессирующим пародонтитом / Ю. Л. Осипова, С. А. Акимова // Морфология. – 2018. – Т. 153, № 3. – С. 209–210.

3. Факторы риска как критерии диагностики быстро прогрессирующего пародонтита / А. В. Ефремова, С. А. Акимова, К. Е. Фролова, С. А. Рыжова // Актуальные проблемы медицинской науки и образования (АПМНО-2019): сб. ст. по материалам VII Междунар. науч.

конф., посвящ. 80-летию Пензенской области и 20-летию Медицинского института ПГУ. – Пенза, 2019. – С. 206–208.

4. Роль нарушений цитокинового профиля десневой жидкости в патогенезе быстро прогрессирующего пародонтита / С. А. Акимова, Ю. Л. Осипова, Н. И. Баранова // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Сер.: Естественные и технические науки. – 2019. – № 10. – С. 194–196.

5. Gingival mucosa proliferative activity and epitheliocytes apoptosis indicators in patients with rapidly progresing periodontitis / S. A. Akimova, N. V. Bulkina, Y. U. L. Osipova, L. Y. U. Ostrovskaya, L. A. Zyulkina, A. P. Vedyaeva, V. V. Konnov // Archiv EuroMedica. – 2019. – № 2 (9). – P. 130–133.

6. Частные вопросы патогенеза быстро прогрессирующего пародонтита / С. А. Акимова, А. В. Ефремова, Е. А. Степанов // Образование и наука в России и за рубежом. – 2019. – № 5 (53). – С. 117–125.

7. Определение цитокинового профиля десневой жидкости у пациентов с быстро прогрессирующим пародонтитом / С. А. Акимова // Санкт-Петербургские научные чтения: сб. тр. по материалам VIII Междунар. молодежного мед. конгресса. – СПб, 2019. – С. 394.

8. Применение остеопластических материалов и материалов для направленной регенерации костной ткани при хирургическом лечении различных форм пародонтита / С. А. Акимова, В. В. Фролова, М. А. Колокольцева // Актуальные вопросы стоматологии : сб. науч. тр. Всерос. науч.-практ. конф., посвященной основателю кафедры ортопедической стоматологии КГМУ проф. И. М. Оксману. – Казань, 2020. – С. 17–22.

9. Использование показателей молекулярных маркеров bcl-2, ki-67, p-53 для оценки пролиферативной активности эпителиоцитов десны у больных быстро прогрессирующим пародонтитом / С. А. Акимова, Ю. Л. Осипова, А. В. Ефремова, К. Е. Фролова //

**Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. - Сер.:
Естественные и технические науки. – 2020. – № 1. – С. 146–150.**

10. Применение систем локальной доставки противомикробных препаратов при лечении хронического пародонтита и пародонтита, характеризующегося агрессивным течением / Ю. Л. Осипова, С. А. Акимова, Н. В. Булкина, Е. Н. Шастин, Е. А. Степанов // Аспирантский вестник Поволжья. – 2020. – № 1–2. – С. 102–107.

11. Новые методы диагностики быстро прогрессирующего пародонтита: монография / Ю. Л. Осипова, С. А. Акимова, Н. В. Булкина, Л. А. Зюлькина. – Пенза: Изд-во Пенз. гос. ун-та, 2020. – 187 с.

12. Взаимосвязь показателей клеточной пролиферации, апоптоза тканей пародонта и цитокинового дисбаланса десневой жидкости у больных быстро прогрессирующим пародонтитом / Ю. Л. Осипова, С. А. Акимова, Н. В. Булкина, А. И. Николаев // Уральский медицинский журнал. – 2020. – № 10 (193). – С. 69–72.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- БПП – быстро прогрессирующий пародонтит
- ХГП – хронический генерализованный пародонтит
- РМА – папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс
- РІ – пародонтальный индекс Russel
- ОНІ-s – индекс гигиены Green – Vermillion
- IL-1 β – интерлейкин 1 β
- TNF- α – фактор некроза опухоли α
- TGF- β 1 – трансформирующий фактор роста β 1
- I p53 – индекс белка – маркера апоптоза p53
- Ibcl-2 – индекс противоапоптозного белка bcl-2
- Iki-67 – индекс белка – маркера пролиферации ki-67

Научное издание

Акимова Светлана Анатольевна

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ,
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ
БОЛЬНЫХ БЫСТРОПРОГРЕССИРУЮЩИМ ПАРОДОНТИТОМ**

14.01.14 Стоматология

Автореферат

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Подписано в печать 01.02.2021. Формат 60×84 ¹/₁₆.
Объем 1 усл.-п. л. Тираж 100 экз. Заказ № 21.

Отпечатано в Издательстве ПГУ
г. Пенза, Красная, 40
Тел.: (8412) 666-777, 666-049; e-mail: iic@pnzgu.ru