

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования

«СЕВЕРНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ГАЛИЕВА

Александра Сергеевна

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА У ЛИЦ,
ПРОЖИВАЮЩИХ В АРКТИЧЕСКОЙ ЗОНЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

3.1.7 – Стоматология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Оправин Александр Сергеевич

Архангельск – 2024 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. Обзор литературы.....	11
1.1. Микробиологические аспекты полости рта в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта	11
1.2. Современные представления об антибиотикорезистентности бактерий полости рта.....	15
1.3. Факторы врожденного иммунитета в патогенезе развития воспалительных заболеваний пародонта.....	20
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	27
2.1. Методы исследования.....	29
2.1.1 Оценка стоматологического статуса.....	29
2.1.2 Оценка пародонтального статуса.....	30
2.1.3 Лабораторные исследования	32
2.1.3.1 Забор биологической жидкости.....	32
2.1.3.2 Оценка микробиологического статуса	33
2.1.3.3 Оценка показателей системы врожденного иммунитета.....	34
2.1.3.4 Цитоморфологический анализ буккального эпителия	34
2.1.4 Методики лечения воспалительных заболеваний пародонта.....	36
2.1.5 Статистические методы исследования	40
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	42
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	92
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	115
ВЫВОДЫ	116
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	117
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	117
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	118
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	119
ПРИЛОЖЕНИЕ	136

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Согласно оценкам ВОЗ (Глобальный доклад о состоянии здоровья полости рта, 2022) воспалительными заболеваниями пародонта в тяжелой форме страдает приблизительно 19% взрослого населения мира, что соответствует более 1 млрд случаев. Болезни пародонта занимают 11-ое место по значимости среди болезней, распространенных в мире [13]. Пародонтит принято рассматривать, как мультифакторное заболевание, развивающиеся под кумулятивным действием экзогенных (аномалии строения зубочелюстной системы, дефекты пломбирования и протезирования и др.) и эндогенных факторов (гормональных нарушений, заболеваний внутренних органов и т.п.) [67]. В основе развития пародонтита лежит микробная биопленка, на 15-20% представленная микробным альянсом и на 75-80% полисахаридным матриксом [4].

Для местного и системного лечения воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП) практикующие врачи-стоматологи назначают антибактериальные препараты (бета-лактамы, макролиды, тетрациклины, линкозамиды, метронидазол), в то время как ряд исследований демонстрируют нерациональное назначение антимикробных препаратов при лечении стоматологических заболеваний, что считается одной из важнейших причин возникновения и быстрых темпов роста антибиотикорезистентности [12,29,133].

Рядом авторов изучены механизмы антимикробной резистентности (АМР) и влияние факторов врожденного иммунитета при воспалительных заболеваниях пародонта [67,94,120,133]. Исследование микробиологического статуса с установлением частоты выявления приоритетных пародонтопатогенов и профиля цитокинов пародонтальных карманов у пациентов с различными нозологическими формами воспалительных заболеваний пародонта, является

актуальным, в виду того, что это определяет дальнейшую тактику проведения корректной этиотропной терапии в условиях растущей АМР.

Степень разработанности темы исследования

Применение современных методов лабораторной диагностики в данной диссертационном исследовании позволило идентифицировать ранее не изученные микроорганизмы в составе микробиоты полости рта и проводить более детальное изучение этиопатогенетических механизмов возникновения воспалительных заболеваний пародонта. Разработке и внедрению в медицинскую практику методов молекулярной диагностики в области анаэробной микробиологии, изучению механизмов формирования биоплёнки в полости рта, посвящены труды отечественных ученых О.О.Янушевич (2005-2023гг), В.Н. Царёва(2000-2023гг), А.И. Грудянова (1983-2023гг), Л.А.Дмитриевой (2000-2018гг). Существенный вклад в изучение проблемы диагностики и лечения воспалительных заболеваний пародонта внесли Л.Ю.Орехова (1990-2023гг), В.Г.Атрушкевич (2005-2023гг), Е.В.Ипполитов(2006-2023гг). Определенное влияние на решение проблемы совершенствования эффективных диагностических критериев, а также аргументация подходов к лечению воспалительных заболеваний пародонта, учитывая микробый состав биопленки оказали труды Е.В.Ипполитова (2009,2011,2016 гг). В настоящее время, учитывая распространение детерминант устойчивости пародонтопатогенов к антимикробным препаратам актуальным является разработка диагностического алгоритма и обоснование тактики лечения хронического пародонтита учитывая микробиологический и иммунный факторы патогенеза.

Цель исследования

Повышение эффективности диагностики и оптимизация тактики лечения воспалительных заболеваний пародонта с учетом микробиологического статуса

полости рта и распространенности детерминант антимикробной резистентности приоритетных пародонтопатогенных бактерий.

Задачи исследования

1. Определить частоту выявления приоритетных пародонтопатогенных бактерий 1 и 2 порядка у больных хроническим генерализованным пародонтитом.

2. Установить взаимосвязь пародонтопатогенных бактерий и их ассоциаций с уровнем показателей врожденного иммунитета.

3. Оценить особенности цитоморфологических изменений буккального эпителия и уровень секреции молекул межклеточной адгезии у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

4. Разработать алгоритм диагностики и обосновать тактику лечения пародонтита на основе данных клинико-рентгенологических, молекулярных иммунологических и цитологических методов исследования.

Научная новизна исследования

В представленном исследовании впервые дана комплексная оценка состояния тканей пародонта при хроническом генерализованном пародонтите у лиц, проживающих в Арктической зоне РФ, с учетом микробиологического и иммунного статусов.

Установлена патогенетическая роль отдельных представителей пародонтопатогенной флоры в составе микробной биопленки (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *T. denticola*) в возникновении и развитии хронического пародонтита.

Установлено, что растворимые молекулы межклеточной адгезии sVCAM и sICAM-1, sE-селектин и sL-селектин являются вспомогательными лабораторными показателями для определения тяжести воспаления в тканях пародонта у больных хроническим пародонтитом.

Особый интерес представляло изучение роли факторов патогенности *P. gingivalis* и *T. forsythia*, пародонтопатогенов стимулирующих синтез провоспалительного $IL1\beta$ и маркера системного воспаления sCD14, что в свою очередь, отражает изменения в регенерации слизистой оболочки рта и в процессах иммунного реагирования в ответ на бактериальную инвазию, а также способствует стимуляции остеокластов, резорбирующих костную ткань альвеолы.

Предложен способ лечения с высокой эффективностью применения комбинации бактериофага и пробиотического препарата при лечении хронического генерализованного пародонтита, который связан с уменьшением численности пародонтопатогенов и снижением иммунного воспаления в тканях пародонта, без использования антибактериальных препаратов и добиться продолжительной ремиссии путем восстановления базового состава микробиоты десневой борозды.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработан и обоснован способ лечения воспалительных заболеваний пародонта, получен патент РФ на изобретение №2808191 от 24.11.2023 г.

Установлена высокая клиническая эффективность способа лечения воспалительных заболеваний пародонта с использованием комбинации бактериофага и пробиотического препарата

Разработанный способ лечения воспалительных заболеваний пародонта позволяет уменьшить численность пародонтопатогенов и снизить иммунное воспаление в тканях пародонта, без использования антибактериальных препаратов и добиться продолжительной ремиссии путем восстановления состава микробиоты десневой борозды и рекомендуемый для применения в практике здравоохранения на пародонтологическом приеме.

Разработаны и внедрены в лечебный процесс учреждений здравоохранения Архангельской области методические рекомендации для врачей «Способ лечения хронического пародонтита».

Результаты исследования внедрены в учебный процесс на факультетах ФГБОУ ВО СГМУ: стоматологическом и медико-профилактического дела и медицинской биохимии.

Методология и методы диссертационного исследования

Методология исследования построена на структурном анализе данных литературы, включающем высокую распространенность заболеваний пародонта, особенности клинического течения, а также методах диагностики и лечения пациентов с хроническим пародонтитом.

Был разработан и осуществлен алгоритм этапов выполнения диссертационной работы: определены объекты исследования и проведен комплекс современных и эффективных методов диагностики. Объектом исследования являлись пациенты, обратившиеся с целью лечения воспалительных заболеваний пародонта. Применяли стандартные и принятые в практическом здравоохранении основные и дополнительные методы исследования: сбор анамнеза, объективное обследование, в рамках которого изучался дентальный и пародонтальный статус. Забор материала, для изучения микробиологического, цитологического и иммунологического статусов, с установлением частоты выявления приоритетных пародонтопатогенов и профиля цитокинов пародонтальных карманов у больных хроническим генерализованным пародонтитом, проводился строго по медицинским показаниям при стоматологических вмешательствах.

Первая часть научно-исследовательской работы выполнена в дизайне поперечного исследования, вторая часть как нерандомизированное контролируемое клиническое испытание, с использованием актуальных методов: клинических, микробиологических, иммунологических, цитоморфологических и статистических.

Основные научные положения диссертационного
исследования, выносимые на защиту

1. Хронический генерализованный пародонтит характеризуется персистирующим воспалением, обусловленным факторами агрессии пародонтопатогенных бактерий, сопровождающимся активацией провоспалительных цитокинов и факторов системного воспаления, дестабилизацией буккального эпителия и эндотелиальной дисфункцией.

2. Рекомендованный алгоритм диагностических мероприятий при хроническом генерализованном пародонтите включает микробиологическое исследование с целью выявления приоритетных пародонтопатогенов, с определением генов антибиотикорезистентности, исследование факторов врожденного иммунитета и цитоморфологическое исследование буккального эпителия.

3. Результаты проведенного нами исследования позволили обосновать способ лечения хронического пародонтита, исключая прием антибактериальных препаратов в условиях растущей антибиотикорезистентности, с использованием бактериофагов и пробиотика.

Степень достоверности и апробация результатов

В ходе проведения научной работы мы строго придерживались принципов доказательной медицины и этики научных и медицинских исследований. Четкая постановка цели и формулирование задач позволили достичь достоверных результатов исследования. Мы применили современные клинические, микробиологические, иммунологические и цитологические методы исследования, выполненные на сертифицированном оборудовании. Анализ полученных данных проведен при помощи статистических программ, выводы апробированы.

Основные положения работы представлены на конференциях и форумах международного, всероссийского и регионального уровней: Международная научная конференция «Университетская наука: взгляд в будущее», посвященная 87-летию Курского государственного медицинского университета (4.02.2022); Итоговая научная сессия СГМУ: «Идеи М.В. Ломоносова для

развития современной науки» - (18.11.2021), «Медицина в Арктике: экологические, фундаментальные и прикладные аспекты», посвященная 90-летию СГМУ – (16.11.2022, 15.11.2023); Международная студенческая конференция университета Земмельвейс (Будапешт, Венгрия; 19.02.2021); IX и X Международный молодежный медицинский форум «Медицина будущего - Арктике»(21.04.2022, 27.04.2023); Летняя образовательная школа в рамках международного проекта «Стоматологические заболевания в Циркумполярном регионе: подходы к лечению в России и Норвегии» (03-06.06.2021); XVI Всероссийская (90-ая Итоговая) студенческая научно-практическая конференция с международным участием «Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты» (13.04.2022); VII и VIII Арктический стоматологический форум (25-26.11.2021, 24-25.11.2022); Научно-Практическая конференция «Актуальные проблемы стоматологии» (27.05.2022); Международный молодежный медицинский конгресс, посвященный 125-летнему юбилею ПСПбГМУ им. акад.И.П.Павлова «Санкт-Петербургские научные чтения» (7-9.12.2022). Апробация диссертационной работы проведена на заседании Проблемной комиссии ФГБОУ ВО СГМУ по стоматологии.

Личный вклад автора в исследовании

Автор непосредственно принимал участие на всех этапах научно-исследовательской работы: патентно-информационный поиск с последующим анализом актуальной литературы, разработка дизайна исследования, выбор и отработка методик, клиническое обследование участников исследования, забор биологического материала и соскобов-мазков для дальнейших лабораторных исследований, сформирована база данных, проведены манипуляции по протоколу лечения и контроль над выполнением рекомендаций, статистическая обработка полученных данных с их последующей интерпретацией, формулировка выводов. Автором разработаны и внедрены методические рекомендации (акты внедрения в практическую и учебную деятельность), опубликованы научные статьи и оформлена заявка на изобретение.

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликованы 12 печатных работ, из них 4 входящих в Перечень журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки Российской Федерации и 3 статьи в журналах, индексируемых международными базами данных (2 - SCOPUS и 1 - Web of Science), патент на изобретение (№2808191 от 24.11.2023 г) и др.

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа изложена с соблюдением традиционного плана: состоит из введения и четырех глав: литературного обзора, материалов и методов исследования, главы результатов собственного исследования, обсуждения результатов, заключения, выводов и практических рекомендаций. Диссертация изложена на 136 страницах машинописного компьютерного текста, иллюстрирована 43 таблицами и 16 рисунками. Проанализировано 140 литературных источников, в том числе 89 отечественных и 51 иностранных. Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.1.7. Стоматология.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Микробиологические аспекты полости рта в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта

В Арктической зоне Российской Федерации широко распространены стрессовые факторы для организма человека, среди них экстремальные условия окружающей среды, токсиканты, характер питания и изменения физической активности, «экологические патогены», нарушение циркадного ритма, загрязнение среды обитания вследствие антропогенного фактора и другие [24,134]. Кроме того, жители Арктической зоны подвержены специфическому хроническому полярному напряжению, вследствие снижения резистентности организма человека в суровых условиях [39]. Вероятно, все вышеперечисленные факторы могут воздействовать на состав и метаболическую активность микробиоты полости рта, а также влиять на состояние врожденного иммунитета.

Миллионы людей в мире страдают от воспалительных заболеваний пародонта. Результаты «Доклада о состоянии здоровья полости рта в мире» Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), основанном на результатах статистических исследований, проведенных в 194 странах, показали, что тяжелой степенью пародонтита страдает около 19 % населения мира, что составляет более миллиарда человек [13]. В начале прошлого века хронический пародонтит встречался у лиц старше 40 лет, однако в последнее время данное заболевание стало встречаться у более молодых лиц [37].

Хронический пародонтит - мультифакториальное заболевание, развивающиеся под кумулятивным действием экзогенных (аномалии строения зубочелюстной системы, дефекты пломбирования и протезирования и др.) и эндогенных факторов (гормональных нарушений, заболеваний внутренних органов и т.п.). В основе развития пародонтита лежат сложные взаимодействия между изменениями иммунного реагирования и микробной биопленки, на 15-20% представленной микробным альянсом, и на 75-80% полисахаридным

матриксом. Установлено, что биопленки разнообразны, их состав и коммуникации безусловно отличаются в различных биотопах полости рта [24,59,104,127]. Понятие «барьер колонизационной резистентности» слизистых оболочек основывается на взаимодействии нормальной микрофлоры и адгезинов бактерий. Во время развития хронического пародонтита микробиом рта становится еще более разнообразным и может состоять из представителей около 150 различных видов. В полости рта встречается по меньшей мере 400 штаммов различных микроорганизмов, в основном это анаэробные грамотрицательные микроорганизмы (10^7 - 10^8 КОЕ/мл в пародонтальном кармане), остальные виды - факультативные анаэробы, обладающие колоссальным иммунореактивным потенциалом [76,78].

В 1 мл десневой жидкости насчитывают до 5 млрд. различных микроорганизмов, сформированных в биопленки [58]. Ассоциация микробов в зубном налете достигает 200 млрд. клеток. Интеграция передовых молекулярно-генетических методов исследования, например секвенирование 16s рибосомальной РНК (рРНК) способствовали созданию банка данных, включающий информацию о микробиоме полости рта человека (Human Oral Microbiome Database – HOMD), которая содержит сведения о более 700 видах микробов, структурированных более, чем в 10 фенотипов: *Chloroflexota*, *Actinomycetota*, *Bacteroidota*, *Euryarchaeota*, *Chlamydiota*, *Bacillota*, *Pseudomonadota*, *Spirochaetota*, *SRI*, *Fusobacteriota*, *Synergistota*, *Mycoplasmata*, *TM7* и др. [134]

Микробы в различных биотопах ротовой полости организованы в биопленку и структурированы, так, например, выделено несколько ареалов: зубы, слизистая щек, языка, губ, твердого и мягкого неба, а также десенная борозда. Стрептококки являются преобладающим микроорганизмом данных биотопов, на слизистой оболочке щек преобладают бактерии рода *Haemophilus*, в наддесневой бляшке - *Actinomyces*, а на прилегающей субгингивальной бляшке - *Prevotella* [123,138].

Основной функцией оральной микробиоты является поддержание колонизационной резистентности, а именно сдерживание условно-патогенной флоры биотопа, конкурируя за сайты адгезии и регулируя реакции иммунной защиты [103]. К представителям стабилизирующей микрофлоры относят следующие микроорганизмы: *Veillonella spp.* 10^2 - 10^7 , *Streptococcus sanguis* 10^4 - 10^6 , *Streptococcus salivarius* 10^2 - 10^7 , *Streptococcus mutans* до 10^6 , *Peptostreptococcus anaerobius* до 10^5 , *Actinomyces spp.* до 10^4 , *Corynebacterium spp.* до 10^6 , *Lactobacillus spp.* 10^2 - 10^8 . Среди комменсальных микроорганизмов выделяют: *S. mitis* до 10^5 , *Staphylococcus spp.* до 10^4 , *Propionibacterium spp.* до 10^4 , *Haemophilus spp.* до 10^4 , *Neisseria spp.* до 10^5 , *Enterococcus spp.* до 10^5 , *Enterobacterium spp.* до 10^3 [62].

Микробиом полости рта выполняет не только защитную функцию, но является причиной различных стоматологических заболеваний инфекционной природы. Так, с кариесом зубов ассоциированы *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus mutans*, *Prevotella spp.* и другие бактерии. Доказано, что у лиц со здоровыми зубами преобладают представители стабилизирующей микрофлоры *Str. gordonii*, *Str. Salivarius* и *Str. Sanguinis* [118]. При различных заболеваниях слизистой оболочки рта, в том числе проявлениях соматических заболеваний (лейкоплакия, системная красная волчанка, красный плоский лишай и др.) широко встречаются *Haemophilus* и *Fusobacteria*, а *Firmicutes* редко. Тяжелая степень дисплазии слизистой рта связывают с выделением высокой численности *Leptotrichia spp.* и *Campylobacter concisus*. Результаты современных исследований позволили выявить взаимосвязь состава оральной микробиоты с развитием плоскоклеточной карциномы: так, при данной форме рака преобладали *Bacillus*, *Enterococcus*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus* и *Slackia* [135].

К наиболее агрессивным представителям пародонтопатогенной флоры относят пародонтопатогены 1 порядка (*Socransky*-«красный комплекс» [116]) - *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* и *P. gingivalis*. Основные факторы патогенности данных микроорганизмов - токсичность и внутриклеточный

паразитизм [83]. *T. denticola*, *P. intermedia*, *E. corrodens*, *F.nucleatum/periodonticum*, *W.recta* и др. определены как пародонтопатогены 2 порядка (Socransky «оранжевый и желтый комплексы» [116]) Ключевые факторы агрессии: синтез протеаз, адгезинов и лактоферрин-/геминсвязывающих белков. Не исключается роль *S. aureus*, *S. intermedius*, *F. alocis* и *P. micra*. [21,23]

Среди всех представителей пародонтопатогенной флоры *Porphyromonas gingivalis* выступает в роли наиболее агрессивного агента, воздействующего на иммунитет человека через инфламмосому и способствующего развитию оксидативного стресса [38]. *P. gingivalis* обладает множеством факторов патогенности, среди которых гемагглютинины, фимбриии и протеиназы. Указанные факторы агрессии и инвазии способствуют адгезии и размножению патогенов в биотопах [112]. Как и у других грамотрицательных бактерий (Гр-), в клеточной мембране *P. gingivalis* основным компонентом является липополисахарид (ЛПС). ЛПС активирует рецепторы распознавания паттернов (PRR), такие как толл-подобные рецепторы (TLR) на поверхности иммуннокомпетентных клеток и нарушает процессы иммунного реагирования [126].

A.actinomycetemcomitans является грамотрицательными, факультативно анаэробными коккобациллами и как и все пародонтопатогены 1 порядка обладает обширным разнообразием факторов вирулентности. Среди них лейкотоксин, который приводит к разрушению полиморфноядерных лейкоцитов и моноцитов, активируя каспазу-1, а также секрецию цитокинов, например IL-1 β . Другой токсин - Cdt - нарушает гомеостаз в тканях пародонта и активирует каспазу 2 и 7. ЛПС способствует экспрессии медиаторов воспаления, в том числе IL-1 β , IL-6 и TNF- α [83].

Наименее изученным пародонтопатогеном «красного комплекса» является *T. forsythia*, вследствие трудной культивации бактерии. *T. forsythia* также стимулирует продукцию медиаторов воспаления, обладает цитотоксическим действием и активирует каспазу-3[83].

Таким образом, микробиом полости рта находится в состоянии динамического равновесия, под действием различных внешних и внутренних факторов. Регулирует процессы иммунного реагирования и поддерживает гомеостаз. Нарушение баланса, в том числе в следствие антимикробной терапии отражается на состоянии не только полости рта, но и всего организма (метаболические нарушения, сердечно-сосудистые заболевания и др.).

1.2 Современные представления об антибиотикорезистентности бактерий полости рта

Открытие антибактериальных препаратов стало одним из основных событий в развитии медицины, в том числе, стоматологии. Однако, лечение бактериальных инфекций с применением антимикробных препаратов сопровождается быстрым формированием устойчивых штаммов бактерий в результате образования и передачи генов резистентности среди представителей микробиоты полости рта. Распространение антимикробной резистентности (АМР) принято рассматривать как всемирную экологическую катастрофу, что подтверждается различными стратегическими документами. АМР требует изменения подходов к лечению бактериальных заболеваний и принятия рациональных решений в области антибиотикотерапии. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определила АМР как мировой кризис и в 2015 году предложила «Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к антимикробным препаратам» [12,139]. В Российской Федерации, в 2017 году правительством также была утверждена «Стратегия предупреждения распространения АМР в Российской Федерации на период до 2030 года» [44].

Естественная резистентность, которой обладают микроорганизмы, связана с отсутствием восприимчивой мишени или снижением проницаемости в отношении определенного антибактериального препарата. Другая форма природной резистентности - адаптационная способность микроорганизмов к образованию микробной биопленки, защищающей бактерии от воздействия внешних факторов, в том числе антибиотиков (АБ) [1,77,82]. Однако основную

роль в развитии антимикробной резистентности играют два процесса: горизонтальный перенос генов и мутации.

Передача генов устойчивости между бактериями обеспечивается горизонтальным переносом [20,46]. Второй механизм - мутации - происходят в генах кодирующих мишень, транспорт антибиотиков, регулирующих экспрессию переносчиков или разрушающих антимикробные препараты ферментов (β -лактамаз). Под действием селективного давления, микроорганизмы способны экспрессировать гены антибиотикорезистентности, что говорит о том, что ротовая полость является благоприятной средой для передачи генов АМР, что безусловно повышает вероятность возникновения бактериальных инфекций [19,46].

К основным причинам возникновения и распространения устойчивости к антимикробным препаратам относят: нерациональное применение антимикробных препаратов в здравоохранении, пищевой промышленности и сельском хозяйстве; неполноценная диагностика с выделением чистой культуры, с дальнейшим определением чувствительности к АБ бактерий в практическом здравоохранении; отсутствие микробиологического мониторинга распространения устойчивости к антибиотикам. Фармацевтическим компаниям экономически не выгодно разработка и внедрение новых антимикробных препаратов. Кроме того, уже в течении одного года с момента внедрения нового препарата, могут быть выявлены гены резистентности. В стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности одной из задач является разработка альтернативных антимикробных препаратов и совершенствование методов лечения бактериальных инфекций, что подтверждает актуальность данного исследования [44].

Нецелесообразное назначение антибактериальных препаратов приводит к нарушению бактериального равновесия, что приводит к неконтролируемому росту патогенных штаммов, в том числе в пародонтальном кармане [15]. Генеральной Ассамблеей FDI, принятой 7 сентября 2018 года (Буэнос-Айрес, Аргентина), воспалительные заболевания пародонта были охарактеризованы

как совокупность микробного дисбаланса и нарушения регуляции ответных реакций организма человека.

Пародонтальные карманы, сформированные по мере прогрессирования хронического пародонтита, представляют собой новые биотопы и являются отличными условиями для микробной инвазии. Бактерии колонизируют пространство пародонтального кармана в апикальном и латеральном направлениях [15].

Врачи стоматологи назначают antimicrobные препараты в хирургической практике, эндодонтических вмешательствах и при лечении заболеваний пародонта. Наиболее часто назначаемым препаратом является амоксилав, защищенный препарат группы бета-лактамов пенициллинового ряда. Другими распространенными бета-лактамами антибиотиками являются цефалоспорины и карбапенемы, а также препараты группы макролидов, поликетидов (тетрациклин) и имидазолы (метронидазол). Доля назначенных стоматологами antimicrobных препаратов, по данным литературы – 7-11%, а в отношении метронидазола доходит до 40% [3,95,138].

Избыточное и неадекватное применение антибактериальных препаратов в практике врача стоматолога способствует росту темпов распространения АМР. Эпидемиологический кризис, вызванный новой короновирусной инфекцией COVID-19, спровоцировал стремительный рост продаж антибиотиков. Назначение antimicrobных препаратов пациентам с COVID-19 не всегда оправдано и требует повышенного внимания со стороны врачебного сообщества, ведь более 90% больных получают АБ, в том числе комбинированную терапию. К примеру, назначение антибактериальных препаратов, должно быть оправдано лабораторно: повышенный уровень прокальцитонина крови, нейтрофилов и лейкоцитов; и клинически, исходя из тяжести состояния пациента, индивидуальных факторов риска и патогенеза заболевания. По данным ТАСС, продажи антибактериальных препаратов в Российской Федерации возросли в 8 раз осенью 2020 г. и более чем в 10 раз в ноябре, по отношению к аналогичному периоду 2019 года [11]. Бесспорно,

пандемия будет способствовать внушительному росту устойчивости к антибиотикам в ближайшем будущем.

В 2015 году на протяжении месяца специалисты Всемирной организации здравоохранения проводили исследование об информированности населения о проблеме АМР («WHO multi-country survey reveals widespread public misunderstanding about antibiotic resistance»), в котором приняли участие 10000 человек из 12 стран мира, включая Российскую Федерацию. В анкету вошли 14 вопросов о применении антибиотиков и проблеме антибиотикорезистентности [12].

На основании анализа данных 1007 анкет в РФ было выявлено, что антибактериальную терапию принимали 56% участников исследования. Среди причин были названы вирусные инфекции, в том числе грипп (67%) [133]. Кроме того, респонденты (26%) считали, что положительная динамика может стать причиной для прекращения приема препаратов. Так, исследование ВОЗ выявило две наиболее часто встречающиеся причины растущей АМР – нарушение длительности курса лечения и нерациональное назначение antimicrobных препаратов [12].

Часто назначение антибиотиков в стоматологии является эмпирическим, без проведенного микробиологического выделения чистой культуры возбудителя. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводится редко, данный пункт не указан в профессиональных стандартах. Стоматологические поликлиники практически не направляют биоматериал в микробиологические лаборатории [29].

Изучение устойчивости к антибиотикам оральной микробиоты, показало, что уровень АМР растет, в отношении как условно-патогенных, так и стабилизирующих оральных микробов. Результаты исследования, проведенного в Великобритании показали, что устойчивость стрептококков полости рта достаточна высока. Так, к пенициллинам устойчивы 27% *S. Oralis* и 11% *S. mitis*, к макролидам (эритромицин) - 51% и 40%, к линкозамидам (клиндамицин) - 6% и 3%, соответственно. Кроме того, исследователи выявили

повышенную устойчивость патогенов резистентных к пенициллину, к другим антибактериальным препаратам [106].

Результаты изучения генов АМР у детей, проведенного в Мексике, выявили резистентность оральных штаммов *Pr. Intermedia*, *S. oralis* и *Tr. denticola* к пенициллинам (амоксициллин 43,7% и амоксиклав 12,0%) и линдамицину (клиндамицин 85,9%) [119].

Результаты изучения АМР в Испании достаточно противоречивы. Так, в одном исследовании устойчивость пародонтопатогенов к пенициллинам (амоксициллин) была менее 10%, однако в отношении *Bacteroides* и *Pr. intermedia* - 25%. Резистентность к антимикробным препаратам других групп была значительно выше (макролиды: эритромицин – 39,1%, азитромицин - 33,2%; метронидазол 50,5%). Однако, в другом исследовании выявлена высокая чувствительность к антибиотикам пенициллинового ряда – 100% (амоксициллин) и синтетическим фторхинолонам – 98% [94].

Результаты исследований в Российской Федерации, показали, что наиболее высокая частота устойчивости к антибактериальным препаратам регистрировалась в отношении наиболее предпочтительных препаратов при лечении хронического пародонтита – бета-лактамов (32%) и линкозамидов (44%) [9,27]. В Беларуси учеными установлена высокая резистентность *S. aureus* к препаратам пенициллинового ряда (амоксициллину) - 85% и макролидам (эритромицину) - 71,4%, при том что чувствительность к цефалоспорином (цефамандол) сохраняли до 74% штаммов. Вероятно, такие расхожие результаты получены в результате назначения антибиотиков одной фармакотерапевтической группы [9,28].

Изучение АМР в других фармакологических группах антимикробных препаратов выявил 20% резистентность к метронидазолу. Штаммы, устойчивые к фторхинолонам (офлоксацину, ломефлоксацину и норфлоксацину) были выявлены у 48-52% обследованных. Довольно низкий уровень устойчивости к антибактериальным препаратам был установлен в отношении

ципрофлоксацина: в 32% выявлены устойчивые штаммы и только в 68% случаев чувствительные [9,47].

Таким образом, устойчивость бактерий развивается в результате следующих механизмов: естественная резистентность, (*Pseudomonas*, метициллин-резистентные *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Actinomyces*), эффлюкс-насосы, продукция β лактамаз и карбапенемаз), уменьшение проникновения antimicrobных препаратов через биопленку или их полная инактивация. Также, широко распространены механизмы горизонтального переноса генов: трансформация, трансдукция и конъюгация, и их роль в развитии АМР велика.

В 2019 году зафиксировано 5 миллионов смертей от бактериальных инфекций, среди которых 1,27 миллиона в следствии АМР. В 2022 году статистические данные показали, что 65% (из 27 стран, которые предоставили данные) обеспечили назначение препаратов группы «ACCESS» в 60% случаев бактериальной инфекции. Ежегодно ВОЗ проводит всемирную неделю повышения информированности о данной проблеме [12].

Проблема антимикробной резистентности остро стоит в мировом сообществе и определенно требует поиска новых методов решения.

1.3 Факторы врожденного иммунитета в патогенезе развития воспалительных заболеваний пародонта

1.3.1. Буккальный эпителий

Буккальный эпителий (БЭ), в цитологической практике используется редко, но в современных исследованиях встречается все чаще. Неинвазивность и относительная простота забора материала привлекает исследователей. Цитоморфометрические характеристики клеток буккального эпителия позволяют судить о нарушениях гомеостаза как на локальном, так и на системном уровне, что в свою очередь характеризует выраженность протекающих патологических процессов. Клетки БЭ высокочувствительны к разнообразным эндогенным и экзогенным воздействиям, под действием которых происходят различные морфофункциональные изменения. Однако, клиническая картина не обладает строгой специфичностью и подвержена

воздействию неблагоприятных факторов, таких как травма, соматическая патология, низкая гигиена полости рта и др. [86].

Ротовая полость выстлана тремя типами эпителия: неороговевающий и ороговевающий (ортокератоз и паракератоз) многослойный эпителий. У здорового человека в цитограммах буккального эпителия редко регистрируются базальные клетки, в основном промежуточные и поверхностные эпителиоциты. Промежуточные клетки имеют полигональную форму, ядро в виде «пузырька» размером до 6 мкм. Хроматин имеет четкую структуру. Поверхностные клетки имеют такую же форму, однако ядро круглой или овоидной формы, размером 8-15 мкм. Соотношение площади ядра к площади цитоплазмы (ЯЦО) 1/7-1/9 [86].

Из данных литературных источников, следует что цитоморфологические изменения клеток БЭ представлены четырьмя группами: 1. Цитогенетические аномалии. Повышенное количество клеток с микроядрами указывает на изменение хромосом в основном ядре и, как следствие, на геномные мутации. Протрузии могут образовываться в результате разрыва хромосом; целыми хромосомами, при соединении ядерных оболочек; почкованием интерфазных ядер. Наличие клеток с микроядрами и протрузиями свидетельствует о нестабильности генома и представляют интерес для исследователей. 2. Пролиферативные изменения. Двухядерные клетки могут формироваться в результате повышения процессов пролиферации, с целью возмещения погибших или поврежденных клеток под действием таких факторов, как токсическое воздействие химических продуктов, воспалительные или онкогенные процессы в организме. Другим индикатором пролиферативной активности является увеличение числа полиплоидных клеток, клеток со сдвоенными ядрами. Увеличение показателей пролиферации может свидетельствовать о длительном хроническом воспалении, что безусловно при хронических формах пародонтита. 3. Показатели апоптоза. Изменение интенсивности апоптоза, говорит о генотоксических изменениях вследствие того, что он контролируется генетически, обеспечивая физиологическую

регенерацию ткани 4. Дегенерация ядра. К необратимым дегенеративным процессам ядра в клетке относят последовательные стадии кариопикноз, кариорексис и кариолизис. При кариопикнозе происходит сморщивание ядра в результате конденсации хроматина. Кариорексис характеризуется раскалыванием ядра, хроматин окрашен интенсивно. Далее ядро дезинтегрируется и теряет способность к окрашиванию хроматина, с дальнейшим полным растворением в случае кариолизиса [86].

Установлено, что клетки БЭ участвуют в иммунном ответе, путем секреции цитокинов и хемокинов: ИЛ-6,8,18; γ -интерферон (ИФН γ), простагландины, лейкотриены и др. Уровень экспрессии цитокинов зависит от функционального состояния клеток БЭ и изменяется под воздействием различных факторов. Исследование клеток буккального эпителия, позволяет оценить состояние слизистой оболочки рта, изучить нарушения системного и местного гомеостаза [64].

1.3.2. Цитокины

Цитокины выступают в роли медиаторов межклеточного взаимодействия, за счет провоспалительной и каталитической активности [79]. Провоспалительные цитокины синтезируются при повреждении тканей, а также в ответ на микробную инвазию [58].

Можно представить классификацию цитокинов в зависимости от структурных особенностей и механизма действия: 1. регулирующие воспалительные реакции: провоспалительные (интерлейкины — ИЛ-1, 6, 8; фактор некроза опухоли- α — TNF- α и γ -интерферон) и противовоспалительные (ИЛ-4, 10; TGF- β); 2) регулирующие клеточный иммунитет (ИЛ-1,2,12; TNF- γ и др.); 3) регулирующие гуморальный иммунитет (ИЛ-4, 5; интерферон- γ ; TNF- β и др.) [58].

Провоспалительные цитокины, запускающие иммунный ответ и способствующие повреждению тканей, это ИЛ-1, ИЛ-6, TNF- α . Основными клетками, продуцирующими ИЛ-1, являются моноциты и макрофаги, также ИЛ-1

продуцируется фибробластами, лимфоцитами, кератиноцитами и нейтрофилами. На местном и системном уровнях, IL-1 является одним из ведущих факторов, способствующих развитию воспалительных реакций и иммунного ответа. IL-6 экспрессируется в ответ на действие вирусов, бактерий, а также других провоспалительных цитокинов - моноцитами, T-лимфоцитами, макрофагами и клетками эндотелия. Активирует пролиферацию T- и B-лимфоцитов [58]. Другие цитокины провоспалительного ряда способствуют секретированию IL-6 нейтрофильными гранулоцитами, в то время как IL-6 увеличивает экспрессию растворимых молекул адгезии (sVCAM-1 и sICAM-1) [98].

TNF- α продуцируется макрофагами и нейтрофилами. TNF- α обладает цитотоксической активностью; иммуномодулирующим действием, путем продукции белков и стимуляции синтеза цитокинов; пролиферации и дифференцировки ряда иммунокомпетентных клеток (нейтрофилов, T- и B-лимфоцитов), что увеличивает их миграционную активность в очаг воспаления [58].

Иммунный ответ при хроническом пародонтите начинается с повреждения микроорганизмами эпителиоцитов слизистой оболочки рта, десневых фибробласт и иммунных клеток. В своем биотопе микробиота постоянно индуцирует и повреждает расположенные рядом клетки, что приводит к стимулированию различных иммунокомпетентных клеток, например, антиген-презентирующих клеток (АПК) и мононуклеарных фагоцитов (МНФ), а также специфических T-хелперов 17 типа (Th17). Все эти взаимодействия приводят к активации цитокинов: семейство интерлейкинов-1 (IL-1), семейство IL-6 и фактор некроза опухоли (TNF). Эти цитокины признаны провоспалительными и обладают плеiotропным эффектом на стимулирование лимфоцитов и разрушение тканей [86].

По данным исследователей при пародонтите происходит 4x кратное увеличение IL-1 и уменьшение IL-4 в зубодесневой жидкости [79]. Большое внимание ученых сосредоточено на изучении вопроса увеличения синтеза

системы RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand). Наибольший интерес сосредоточен в отношении стимуляции RANKL в результате токсического действия пародонтопатогенов 1 порядка: *A. Actinomycetemcomitans* и *P. gingivalis*. Известно, что блокировать действие RANKL может остеопротегерин (ОПГ), синтезируемый клетками эндотелия и фибробластами. Современные исследования показывают, что в тканях с прогрессирующим заболеванием пародонта секреция ОПГ снижена, по сравнению с здоровыми тканями. TNF может действовать совместно с RANKL поддерживая остеокластогенез [51].

В клеточной стенке грамотрицательных бактерий содержится липополисахарид (ЛПС), который является эндотоксином бактериальной клетки [30]. Данное вещество связывается с толл-лайн рецепторами-4 (TLR-4) на поверхности иммунокомпетентных клеток и активирует каскад воспалительных реакций. Активация иммунных клеток ведет к повышению медиаторов воспаления. Известны липополисахарид распознающие сигнальные рецепторы, такие как CD14, CR-3 рецепторы комплемента и сам TLR-4. Активность ЛПС меняется в результате взаимодействия с липополисахарид-связывающим белком (ЛСБ), структурно напоминающим бактерицидный белок (BPI), однако отличающийся функционально, а именно не стимулирует синтез медиаторов воспаления: IL-1, IL-6 и TNF- α . Комплекс сформированный из ЛПС и ЛСБ присоединяет к себе молекулу CD14 с трансмембранным TLR-4, что в свою очередь индуцирует воспалительные реакции. В качестве маркера активированных эндотоксином клеток и микробной транслокации рассматривают растворимый рецептор CD14 (sCD14). Действие sCD14 неоднозначно и может как увеличивать, так и снижать клеточный ответ на ЛПС. Один из путей воздействия на ЛПС – нейтрализация эндотоксина при его переносе на липопротеины. Кроме того, sCD14 облегчает активацию ЛПС CD14-негативных клеток (эндотелиальных и других эпителиальных). При этом высокое содержание sCD14 ингибирует активацию моноцитов, индуцированную ЛПС [30,109,136,137].

Оценка уровня sCD14 при хроническом пародонтите может отражать состояние резистоста ротовой полости и быть прогностическим критерием тяжести течения заболевания.

1.3.3. Роль эндотелиальной дисфункции в развитии хронического генерализованного пародонтита

Пародонтопатогенные бактерии имеют обширный арсенал факторов адгезии, инвазии, а также обладают токсическими свойствами. Пародонтопатогены 1 порядка (*A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. gingivalis*) повреждают мембраны эндотелиальных клеток. Продолжительное и непрерывное воспаление при ХГП сопровождается нарушением функции эндотелия, а именно его антикоагулянтных, антиагрегантных и фибринолитических свойств, что может подтверждать роль дисфункции в развитии и прогрессирования данного заболевания [99].

Ключевая роль в изменении свойств сосудистой стенки отведена мембранным белкам, – молекулам межклеточной адгезии, экспрессируемым на поверхности эндотелиоцитов, включающих интегрины, адгезивные рецепторы суперсемейства иммуноглобулинов, селектины и другие. Молекула межклеточной адгезии 1 типа (sICAM-1) и молекула адгезии сосудистого эндотелия 1 типа (sVCAM) относятся к суперсемейству иммуноглобулинов, практически не экспрессируемые в физиологическом состоянии эндотелия. В качестве индукторов указанных клеток выступают основные медиаторы воспаления, такие как IL-1, IL-6 и TNF- α . Кроме того, sICAM-1 является лигандом для лейкоцитарного интегрин LFA-1 (Lymphocyte Function-Associated Antigen-1) и маркером, отражающим воспалительные реакции, который экспрессируется быстрее и в большем количестве, чем HLA-DR (Human Leukocyte Antigen – DR isotype) [60, 88].

Известно, что, хотя sVCAM постоянно на эндотелии не экспрессируется, он может синтезироваться в ответ на стимуляцию эндотоксином грамотрицательных бактерий, TNF- α и IL-1, а также ИФН- γ и IL-4. Молекула-1 эндотелиально-лейкоцитарной адгезии (sE-селектин) инициируется

медиаторами воспаления (TNF- α и IL-1), а также эндотоксинами, и является трансмембранным гликопротеином. Кроме того, sE-селектин выступает в роли посредника для внутрисосудистого проникновения лейкоцитов к месту воспаления. Начальное взаимодействие лейкоцитов с клетками эндотелия обеспечивается благодаря молекуле адгезии-1 лейкоцитов к эндотелиальным клеткам (sL-селектин). Это взаимодействие сопровождается участием sE-селектина способствуя трансудации лейкоцитарных клеток через стенки кровеносных сосудов к месту воспаления или в лимфоидные ткани [6,33,60].

Таким образом, участие маркеров эндотелиальной дисфункции в патогенетических механизмах развития ХГП позволяет оценить уровень иммунного реагирования макроорганизма и спрогнозировать дальнейшее течение хронических процессов в пародонте.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для достижения сформулированной цели и решения поставленных задач, было проведено комплексное клинико-рентгенологическое и лабораторное исследование 217 человек. В ходе проведения научной работы 54 человека были исключены на различных этапах. Полный комплекс предложенных лечебных мероприятий прошли 100 пациентов мужского и женского пола в возрасте 18-44 лет с хроническим генерализованным пародонтитом. Контрольная группа включала 63 человека с интактными тканями пародонта и аналогичными гендерными характеристиками.

Для проведения первого этапа исследования был выбран дизайн - поперечное испытание, второй – нерандомизированное контролируемое клиническое испытание.

Клинический этап научно-исследовательской работы проведен в *ГАОУЗ АО «Северодвинская стоматологическая поликлиника»*. На данном этапе проводили подтверждение диагноза, согласно МКБ 10 исходя из результатов клинико-инструментального и рентгенологического исследования участников. Комплекс лабораторные исследований был выполнен в лаборатории клинической микробиологии и ПЦР-диагностики на кафедре клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики.

Для включения участников в основную группу были определены следующие критерии: наличие корректно оформленного добровольного согласия на участие в исследовании, установленный диагноз хронический пародонтит (K05.3 по МКБ10) легкой или средней степени тяжести, проживание не менее 5 лет на арктической территории Российской Федерации. Критерии включения в группу контроля аналогичны, за исключением состояния тканей пародонта (интактный пародонт). Критерии невключения были общими для обеих групп: несоответствие возрасту, любая соматическая патология в стадии обострения, добровольный отказ. Участники были исключены из исследования при наличии следующих критериев: любые другие

заболевания полости рта воспалительного характера; беременность и послеродовой период; проведение антибиотикотерапии за последние полгода; курение, в том числе электронных сигарет; невозможность участия на всех этапах исследования.

В связи с установленным влиянием курения на функциональный статус буккального эпителия, курящие были исключены из исследования [40,42,69,76,81,87].

Распределение пациентов с ХГП с учетом гендерного аспекта представлены в таблице 1. Средний возраст пациентов составил 40 (32;44) лет. Важно отметить, что в ходе исследования проведенный статистический анализ не выявил значимых различий в группах в зависимости от возраста и пола, что позволило исключить данные переменные из анализа.

Таблица 1 - Распределение пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом с учетом пола, абс.ч.

Пол	Число больных	Хронический пародонтит легкой степени	Хронический пародонтит средней степени
Мужчины	50	18	32
Женщины	50	36	14
Всего	100	64	36

Каждый участник был подробно проинформирован о цели и деталях исследования, правильности подготовки к лабораторным методам. Получено письменное добровольное информированное согласие на русском языке. В ходе исследования были строго соблюдены этические принципы, установленные в Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (Декларация Хельсинки, 1964, 2000). Получено положительное решение независимого этического комитета ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России от 31.03.2021г.

Пилотная часть работы выполнена в рамках гос. Задания №056-00121-18-00 на 2018-2020 гг. «Особенности обменных процессов и питания населения, включая школьное, у коренного и пришлого населения Арктического региона

Российской Федерации» при консультации проф., д.м.н., директора НИИ Арктической медицины Дегтевой Г.Н.

2.1 Методы исследования

При изучении стоматологического статуса проводили подробный сбор анамнеза, выяснение жалоб и комплексный осмотр стоматологического здоровья: оценивались интенсивность кариеса зубов (КПУ), состояние пародонтальных тканей и слизистой оболочки рта (СРІ, ОНІ-S, РМА, индекс кровоточивости по Muhlemann-Saxer, определение подвижности зубов по Энтину, ортопантомография, индекс Фукса). Лабораторные методы включали определение морфологической структуры и морфометрических показателей слизистой оболочки рта; оценку микробиологического статуса; оценку антимикробной резистентности приоритетных пародонтопатогенов и оценку показателей врожденного иммунитета в слюне.

2.1.1 Оценка стоматологического статуса

Стоматологический статус оценивали на основании руководства ВОЗ, 2013 [73], с использованием STEPS-подхода: первым этапом проводили подробный опрос пациента, затем переходили к физиологическим измерениям и сбору биохимических показателей.

Клиническое обследование начинали с подробного выявления жалоб: зуд, чувство дискомфорта, боль, кровоточивость десен, наличие зубных отложений, подвижность зубов. Выясняли общие жалобы, наличие сопутствующей соматической патологии, причины потери зубов, давность и причины приема антимикробных препаратов.

Состояние твердых тканей зубов определяли по результатам индекса КПУ. Компоненты индекса оценивались в отношении коронок и корней зубов. К компоненту «К» относили не только зубы с кариозным процессом коронки и/или корня, но и запломбированные зубы, с признаками вторичного кариеса. К компоненту П относили зубы с различными пломбировочными материалами,

без явлений кариозного процесса. Зубы, с проведенной герметизацией фиссур или несъемными зубными протезами/выступающие в роли опоры мостовидных протезов/виниры или имплантаты не учитывались в исследовании. С учетом возрастной группы в компоненте «У» учитывали все удаленные зубы, вне зависимости от причин. Уровень интенсивности кариеса зубов (УИК, Леус) рассчитывали по формуле: $УИК = КПУ/N$, где КПУ - кариес, пломба, удаленный зуб; N - возраст обследуемого в годах. Для исследуемой возрастной группы УИК интерпретировали в следующих критериях: УИК не более 0,15 является низким; от 0,15 до 0,30 - средний; от 0,31 до 0,60 - высокий; 0,60 и более - очень высокий.

2.1.2 Оценка пародонтального статуса

Оценку гигиенического состояния полости рта (зубной налет и зубной камень) оценивали из результатов индекса Oral Hygiene Index Simplified - ОНI-S (упрощенного). Зубы 16, 11, 26, 31 (вестибулярно), 36 и 46 (язычно) окрашивали по известной методике раствором Шиллера-Писарева. Результаты интерпретировали следующим образом (суммарно): хороший уровень гигиены 0-1,2, удовлетворительный 1,3-3,0, плохой – 3,1 – 6,0.

В качестве комплексного индекса оценки состояния тканей пародонта применяли индекс СРI (модифицированный), при помощи пародонтального зонда по методике ВОЗ [73]. Тяжесть заболевания оценивали по следующим показателям: Код 0 присваивали зубам, у которых симптомы отсутствовали; код 1 - выявлена кровоточивость десны; код 2 - зубам, с наличием над и поддесневого зубного камня; код 3 зубам, с пародонтальными карманами 4-5 мм; код 4 зубам, с пародонтальными карманами 6 мм и более. Так же оценивали количество и процент исключенных (X) и отсутствующих зубов (9).

Оценку деструкции эпителиального прикрепления проводили, разделив полость рта на секстанты, в каждом боковом секстанте исследовали индексные зубы: 17\16, 11, 26\27, 47\46, 31, 36\37. Если индексного зуба нет, проводили

обследование присутствующих зубов и регистрировали самый большой выявленный код.

Индекс РМА проводили с целью определения воспаления в разных участках десны: десневых сосочках (Р), маргинальной (М) альвеолярной (А) десне.

Отсутствие симптомов оценивали в 0 баллов, 1 балл - поражение десневого сосочка, 2 балла - поражение маргинальной десны и десневого сосочка, 3 балла – окрашивание в том числе и альвеолярной десны. Формула расчета индекса: сумма баллов/(n*3), где n - количество зубов. Интерпретация индекса 0-30% легкая степень воспаления, 31-60% - средняя, 61 и > - тяжелая [36].

Индекс кровоточивости (Muhlemann-Saxer) оценивали по характеру кровоточивости десневого сосочка и борозды во время зондирования: 0 – кровоточивость не выявлена; 1 балл – точечное, единичное; 2 балла – линейное; 3 балла – кровотечение в виде треугольника; 4 – профузное кровотечение. Результат определяли высчитывая среднее арифметическое.

Подвижность зубов в одном направлении (вестибуло-оральном) относили к 1 степени по Энтину. При патологической подвижности 2 степени, зуб имел видимое смещение не только в вестибуло-оральном направлении, но и в саггитальном. Для 3 степени характерно смещение в вертикальном направлении: погружение зуба в лунку при надавливании на него, с дальнейшим возвращением в исходное положение.

Для оценки эффективности выбранных способов лечения дополнительно был использован индекс эффективности Улитовского, рассчитываемый по формуле: Индекс эффективности (%) = $100 * [PMA(1) - PMA(2)] / PMA(1)$, где PMA(1) - индекс РМА до лечения, PMA (2) - после лечения.

Для проведения рентгенологического исследования, был использован ортопантомограф KaVo OP 3D (производство Германия). При изучении ортопантомограмм определяли количество постоянных зубов и их зачатков, состояние твердых тканей зубов и периапикальных тканей. Кроме того, ортопантомография позволила проанализировать структуру, форму и высоту

межалвеолярных перегородок, определить глубину пародонтальных карманов и оценить структуру и плотность костной ткани [66]. Для постановки диагноза ХГП и объективности данных был использован индекс Фукса, свидетельствующий об убыли костной ткани.

Корень каждого зуба был условно разделен на 3 части, относительно которых и оценивался уровень деструкции: 0 - зуб расположен вне костной ткани или отсутствует; 1 – потеря костной ткани более $\frac{2}{3}$ длины корня; 2 - убыль костной ткани находится в диапазоне $\frac{1}{3}$ - $\frac{2}{3}$; 3 балла, если убыль костной ткани менее $\frac{1}{3}$. Оценка в 4 балла выставляется в случае, если убыль костной ткани не обнаружена. Индекс высчитывали по формуле: (сумма показателей)/(количество зубов * 4) и интерпретировали следующим образом: 0 – резорбция доходит до апикальной части корня, 0,25-0,5 - на $\frac{2}{3}$ длины корня; 0,5- 0,75 - $\frac{1}{2}$ и 0,75 - резорбция на $\frac{1}{3}$ корня, 1 - нормальное состояние костной ткани.

Значения пародонтологических индексов определяли у больных хроническим пародонтитом на каждом этапе исследования: первичный осмотр, первый и второй этапы лечения, по прошествии трех месяцев с момента окончания лечебных мероприятий.

2.1.3 Лабораторные исследования

2.1.3.1 Забор биологической жидкости

Материалом для исследования служили десневая жидкость и содержимое пародонтального кармана. Пробы отбирали с помощью стерильного бумажного эндодонтического штифта (№30). Забор материала осуществлялся без контакта со слизистой оболочкой и коронкой зуба. После примерно полуминутной экспозиции штифт помещали в микропробирку со стерильным физиологическим раствором (500 мкл). В течение 12 часов материал был транспортирован в специальных контейнерах, где температура не превышала – 4°C.

В лаборатории пробирку с пробой перемешивали на вортексе, центрифугировали в течение 10 минут при 4С при 1500 об./мин. Надосадочную жидкость аликвотировали. Образцы хранили при температуре -70°С до проведения полимеразной цепной реакции и иммуноферментного анализа.

2.1.3.2 Оценка микробиологического статуса

Все исследования проведены в лаборатории клинической микробиологии и ПЦР диагностики кафедры клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России (зав. кафедрой д.м.н. профессор Бажукова Т.А.)

Выявление условно-патогенных микроорганизмов полости рта проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на амплификаторе «ДТ-лайт» (ООО «ДНК-Технология», РФ). Перед проведением исследования образцы выдерживали при комнатной температуре.

Согласно инструкциям к наборам производителя осуществлялось выделение нуклеиновых кислот («Проба-ГС-ПЛЮС», ООО «ДНК-Технология», РФ) и амплификация выделенных проб («ПародонтоСкрин», ООО «ДНК-Технология», РФ). Спектр определяемых микроорганизмов составляли: *Agreggatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* и *Candida albicans*.

Для выявления носительства генов устойчивости пародонтопатогенов к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам использовали ПЦР-РВ. Выделение нуклеиновых кислот было проведено аналогичным набором реагентов («Проба-ГС-ПЛЮС», ООО «ДНК-Технология», РФ). Амплификация выделенных образцов производилась по прилагаемым инструкциям («Бакрезиста-GLA», «ДНК-технологии», РФ) и включала в себя определение генов устойчивости к карбапенемам – oxa-23-like, oxa-40-like, oxa-48-like, oxa-

51-like, imp, kpc, ges, ndm, vim, пенициллинам и цефалоспорином – tem, ctx-M-1, shv, метициллину – mecA, ванкомицину – vanA/B.

2.1.3.3 Оценка показателей системы врожденного иммунитета

Перед проведением исследования, замороженные аликвотированные образцы выдерживали при комнатной температуре (18–25С), перемешивали, не допуская образования пены, разводили в 2000 раз.

Для оценки системы врожденного иммунитета у обследованных применялся метод иммуноферментного анализа (ИФА), в ходе которого были определены показатели: содержание рекомбинантного растворимого белка CD-14, растворимых форм молекул адгезии (sICAM-1, sVCAM, sE-селектина, sL-селектина («Нускулт Биотек», Нидерланды)), концентрации цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α («Вектор-Бест», Россия)).

Протокол постановки реакции осуществлялся согласно инструкции к наборам от производителя. Оптическая плотность содержимого ячеек планшета регистрировалась на фотометре «Multiscan EX» (пр-во «Thermo Fisher Scientific», США). Количественные данные были получены с учетом построенных калибровочных кривых из стандартных образцов, прилагаемых производителем.

2.1.3.4 Цитоморфологический анализ буккального эпителия

Для оценки цитоморфологических изменений клеток буккального эпителия подсчитывали клетки с цитогенетическими аномалиями, показатели пролиферации и апоптоза, а также дегенеративно-дистрофические изменения [86]. Кроме того, индексная оценка включала: индекс кератинизации (ИК) и индекс дифференцировки клеток (ИДК). Для оценки состояния неспецифической резистентности тканей полости рта проводили реакцию адсорбции микроорганизмов (РАМ).

Мазок эпителия щеки брали стерильным шпателем на уровне смыкания зубов, равномерно распределяли на обезжиренном стекле и подсушивали.

Фиксацию клеток проводили, погружая на 10 минут препараты в этиловый спирт (96%). Окрашивание проведено по методике Романовского-Гимзе. Исследование проводили под иммерсией с помощью светового микроскопа Axio Scope A1 (Carl Zeiss) на комплексе автоматизированной микроскопии МЕКОС-Ц2. Цитологическое исследование проведено в Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО СГМУ (Минздрава России).

Индекс дифференцировки клеток рассчитывали в мазках при помощи окуляра-линейки со шкалой. Первоначально определяли площадь ядра, цитоплазмы и ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО). Основываясь на полученные результаты изучали степень дифференцировки эпителиальных клеток. Объем клеток для каждого мазка составил - 100 эпителиоцитов. Значения представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Показатели ядерно-цитоплазматического отношения в соответствии со степенями дифференцировки [53]

Степень дифференцировки	Ядерно-цитоплазматическое отношение
1	0,50 - 0,49
2	0,40 до 0,49
3	0,30 до 0,39
4	0,20 до 0,29
5	0,10 до 0,19
6	Отсутствие ядра (ЯЦО=0)

Формула расчета индекса выглядит следующим образом: $ИДК=1а+2б+3в+4г+5д+6е$, где 1-6 – степень дифференцировки (см. таблицу 2), а, б, в, г, д, е – процент эпителиальных клеток каждой степени. Результат считали удовлетворительным если значения варьировали в пределах 450-470, любые другие значения принимали как неудовлетворительные [53].

Неспецифическую резистентность слизистой оболочки рта оценивали исходя из процентного соотношения клеток с положительными результатами реакции адсорбции микроорганизмов (РАМ). Для этого учитывали количество патогенов на поверхности эпителиоцита. Объем клеток для анализа составил 100. В зависимости от числа адгезированных бактерий клетки разделены на 5

групп: единичные микроорганизмы или их полное отсутствие относили к I группе, от 5 до 25 – ко II группе, 26-50 – к III группе, 50-200 – к IV группе, более 200 к V группе. Далее проводили подсчет клеток: I, II и V группы классифицировали как отрицательная РАМ (РАМ-), III и IV – положительная (РАМ+). Результаты трактовали следующим образом: при значениях РАМ+ \geq 31% - удовлетворительная резистентность и неудовлетворительная при $<$ 30% [53].

Барьерная функция слизистой оболочки рта характеризуется степенью ее ороговения. Индекс кератинизации (ИК) рассчитывали исходя из процентного соотношения безъядерных клеток. Формула:
$$\text{ИК} = \frac{\text{количество безъядерных клеток}}{\text{количество клеток в мазке}} * 100.$$
 Результаты интерпретировали следующим образом: удовлетворительно ИК=15-25%, $<$ 15 ИК $>$ 25 – неудовлетворительно [53].

В соскобах фиксировали наличие следующих показателей, классифицировав их в группы: нарушения цитогенетические (регистрация протрузий и микроядер), показатели некробиоза (кариопикноз, кариорексис и кариолизис) и показатели пролиферации (наличие двуядерных клеток).

2.1.4 Методики лечения воспалительных заболеваний пародонта

В связи с растущей антибиотикорезистентностью современные исследователи стараются предложить новые схемы воздействия на микробный фактор и поиск пробиотических препаратов, укрепляющих барьеры колонизационной резистентности организма человека за счет микробного антагонизма [16,24,34,70].

С целью разработки персонафицированного подхода к лечению хронического генерализованного пародонтита больные были независимо распределены на группы:

1 группа - традиционное лечение хронического пародонтита согласно утверждённым клиническим рекомендациям (протоколам лечения) [32,52];

2 группа - предложенный метод лечения с последовательным применением бактериофага (гель «Фагодент») и пробиотика «Бактоблис» (жевательные таблетки).

Пациентам обеих групп проведена профессиональная гигиена рта, с индикацией и последующим тщательным снятием всех зубных отложений, кюретаж при необходимости, индивидуальное гигиеническое обучение с контролируемой чисткой зубов. Пациентам контрольной группы было назначено лечение согласно клиническим рекомендациям (протоколам лечения) «Пародонтит» включая местное противомикробное и противовоспалительное (хлоргексидин+метронидазол (МетрогилДента)), а также антигистаминное (Зиртек) лечение по показаниям [32,52]. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

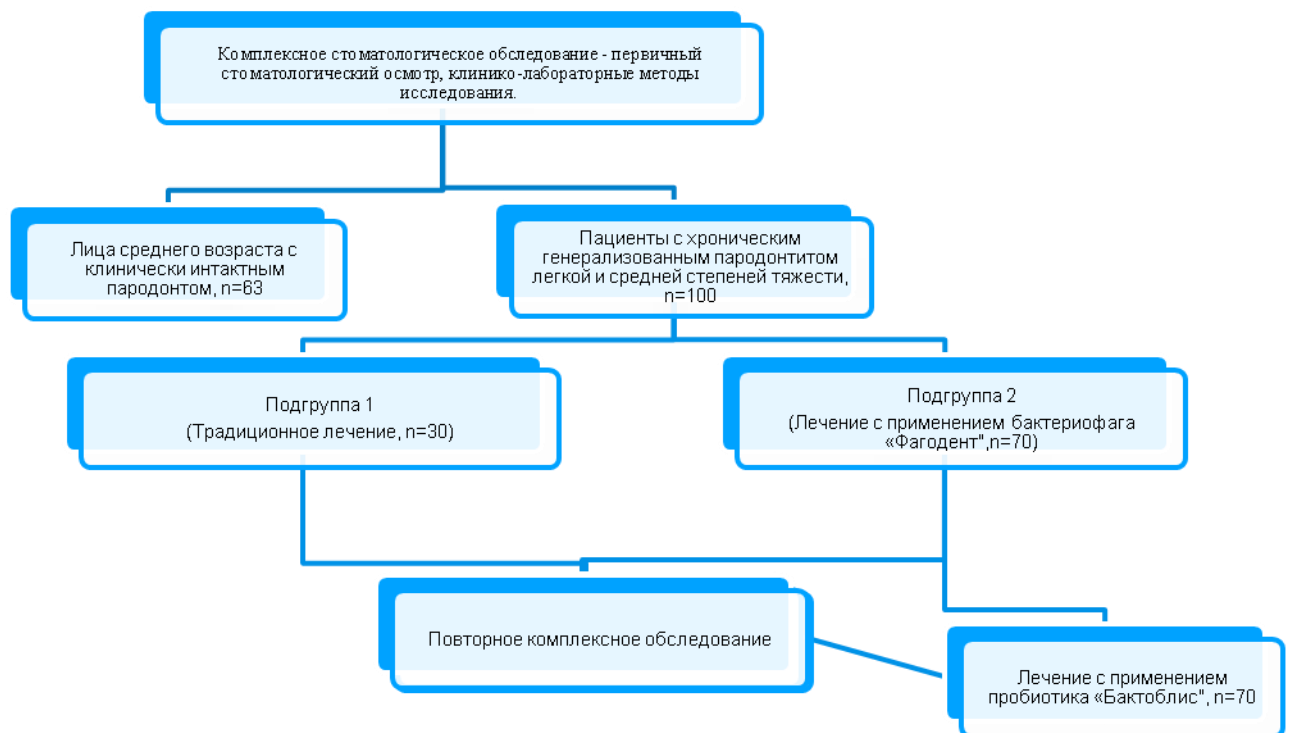


Рисунок 1. Дизайн исследования клинических групп

2.1.4.1 Метод лечения хронического пародонтита с применением геля на основе бактериофагов «Фагодент»

Местную терапию хронического пародонтита проводили с применением геля с бактериофагами «Фагодент» (ООО НПЦ «МикроМир»). Препарат «Фагодент» содержит комплекс из 81 вида бактериофагов в стерильном физиологическом растворе, а также вспомогательные вещества: вода очищенная, карбопол, экстракт календулы, катон. Комплекс из бактериофагов направлен на коррекцию дисбиоза в полости рта, подавляя рост штаммов патогенных бактерий, среди которых: *A. Actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. Intermedia*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. cloacae*, *Proteus vulgaris* и *mirabilis*, представителей рода *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Weilonella* и др. [70].

Гель «Фагодент» способствует предотвращению возникновения бактериальных заболеваний полости рта и нормализации микрофлоры полости рта; а также получил широкое применение при различных травматических поражениях органов полости рта, периимплантите, хроническом афтозном рецидивирующем стоматите. Гель успешно применяют при лечении галитоза. Противопоказанием является повышенная чувствительность к компонентам препарата [70].

Пациенты основной группы после индивидуальной гигиены полости рта наносили гель в виде аппликаций 2 раза в день, в течении 2х недель. После нанесения препарата не разрешалось принимать пищу и пить воду, в течении 2х часов.

2.1.4.2 Метод лечения хронического пародонтита с применением таблеток для рассасывания «Бактоблис»

Streptococcus salivarius K12 (SsK12) основной компонент пробиотического препарата Бактоблис®. Это штамм пробиотических бактерий, один из представителей стабилизирующей микрофлоры ротовой полости. Н.Р. Horz (2007) установил, что механизмом действия *SsK12* выступает колонизация полости рта и носоглотки. *Ss K12* способствует вытеснению патогенной микрофлоры, конкурируя за питательные среды. Эффект сохраняется в течение месяца с момента последнего приема пробиотика. Кроме того, *SsK12*

продуцирует бактериоцины: саливарицин А2 и Б, которые являются природными антимикробными веществами локального действия. Бактериостатическое действие обеспечивается продукцией саливарицина А2, который нарушает синтез бактериальной мембраны и тормозит синтез их нуклеиновых кислот. Бактерицидное действие заключается в способности разрушать клеточную стенку микроба и обеспечивается продукцией саливарицина Б [104,105].

Препарат выпускается в форме таблеток для рассасывания, действующими веществами является биомасса лиофилизированных живых пробиотических бактерий *Streptococcus salivarius BLIS K12*® (бактериоцино-подобная ингибиторная субстанция), а также вспомогательные вещества: фруктоза, мальтодекстрин, кремния диоксид, магния стеарат (растительный) и ароматизатор (клубника).

Пациентам основной группы препарат назначали по 1 таблетке 1 раз в день, перед сном. Таблетку рассосать до полного растворения, не запивая водой. Курс приема 1 месяц.

Противопоказанием является индивидуальная непереносимость компонентов.

Бактоблис® хорошо переносится пациентами, безопасен, гипоаллергенен. Для препарата установлен GRAS-статус (Generally Regarded as Safe), что подтверждает его безопасность на международном уровне и позволяет применять в пищевой и фармацевтической промышленности без ограничений.

Подробное описание проведенных манипуляций на каждом этапе лечения представлено в таблице 3.

Таблица 3 - Алгоритм лечения хронического генерализованного пародонтита

Посещение	Проводимое лечение
1 посещение	Первичный стоматологический осмотр. Клинико-лабораторное исследование. Профессиональная гигиена рта. Индивидуальное гигиеническое обучение. Назначение препаратов, с тщательной расшифровкой схемы лечения: традиционное лечение (согласно клиническим рекомендациям и национальному руководству «Пародонтит»)) (n=30) или гель с бактериофагами «Фагодент» (n=70).
2 посещение (через 14 дней)	Контроль гигиены полости рта. Повторный стоматологический осмотр. Клинико-лабораторное исследование. Назначение таблеток для рассасывания «Бактоблис» (n=70).
3 посещение(через 30 дней)	Повторный стоматологический осмотр. Клинико-лабораторное исследование (n=70).
4 посещение (через 3 месяца)	Повторный стоматологический осмотр. Клинико-лабораторное исследование. (n=100)

2.1.5 Статистические методы исследования

Статистический анализ проведен с помощью программы STATA. Нормальность распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка, по результатам которого применяли параметрические и непараметрические критерии. Качественные данные в научной работе отражены в виде количества наблюдений (n) и доли (%). Количественные показатели – в виде медианы (Md) и квартилей [Q1;Q3], либо в виде средней арифметической (M) и доверительного интервала (95% ДИ). Для определения различий между средними значениями применяли критерий Манна-Уитни. Статистическая обработка качественных показателей в 2х независимых группах применяли критерий Хи-квадрат Пирсона. Выполнен логистический регрессионный анализ и корреляционный анализ Спирмена. Количественное содержание пародонтопатогенов представлены в виде десятичного логарифма. Для оценки прогностической значимости модели - количества микроядер при

прогнозировании пародонтита, применялся метод построения ROC-кривых. Рассчитывались следующие критерии: площадь под кривой, чувствительность и специфичность при различных точках отсечения. Для сравнения результатов полученных в группах по способу лечения, для количественных признаков рассчитывали разницу (дельта - Δ), путем вычитания исходных значений из полученных по окончании лечения. Уровень статистической значимости выбран $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Особенности дентального статуса

у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта

Общеизвестным патогенетическим механизмом возникновения кариозного процесса служит прогрессирующая деминерализация твёрдых тканей зубов под воздействием органических кислот, вызванных деятельностью микроорганизмов, нарушением слюноотделения, различными воспалительными заболеваниями тканей пародонта. Ряд исследований указывают о наличии взаимосвязи между пародонтитом и кариесом зубов, и процесс этот считается двусторонним [121]. С учетом изложенного нами была проведена оценка интенсивности кариеса зубов у обследованных групп.

По результатам наших исследований установлено, что распространенность кариозного процесса в основной группе, имеющей воспалительные заболевания пародонта, составила 57 %, в группе с интактным пародонтом 43 % ($p = 0,151$). При анализе интенсивности кариеса у больных хроническим пародонтитом и контрольной группе, по результатам индекса КПУ, была выявлена статистически достоверная разница ($p = 0,007$). Так, в основной группе отмечался высокий уровень интенсивности кариеса (УИК) (41%), а в группе контроля низкий (33,3%), Распределение УИК представлено в таблице 4.

Таблица 4 - Уровень интенсивности кариеса (УИК, Леус)
у пациентов основной группы и группы контроля, абс. ч. (%)

УИК	Трактовка	Основная группа	Контрольная группа	p-уровень
< 0,15	низкий	16 (16%)	21 (33,33 %)	0,017
0,15-0,3	средний	24 (24%)	17 (26,98 %)	0,507
0,31-0,6	высокий	41 (41%)	17 (26,98 %)	0,965
> 0,6	очень высокий	19 (19%)	8 (12,7 %)	0,936

Примечание: уровень p рассчитывали при помощи χ^2 Пирсона.

При изучении отдельных компонентов индекса КПУ установлено, что есть статистическая разница, при этом в обеих группах преобладает компонент «п», что говорит о высоком уровне обращаемости к врачу стоматологу (таблице 5).

Таблица 5 - Компоненты индекса КПУ у больных хроническим пародонтитом и лиц с интактным пародонтом, Ме [Q1;Q3]

Переменные	Основная группа	Группа контроля	Уровень р
КПУ	14 [7;21]	8 [5;16]	0,009
К	1 [0;2]	1 [0;3]	0,029
П	9 [4,5;14,5]	4 [1;7]	<0,001
У	0 [1;5]	0 [0;1]	<0,001

Примечание: уровень р рассчитывали при помощи критерия Манна-Уитни.

Таким образом, исследование позволило установить высокую интенсивность кариозного процесса в основной группе по сравнению с контрольной, что отражает общий уровень заболеваемости в РФ.

3.2 Пародонтальный статус у пациентов с хроническим пародонтитом

Обследование больных хроническим пародонтитом начинали со сбора жалоб, анамнеза жизни и заболевания, в том числе длительность течения, количество и кратность обострения процесса и продолжительность ремиссии. Кроме того, у больных узнавали проводилось ли ранее лечение, какие процедуры проводили и препараты назначали, а также его эффективность.

Больные хроническим пародонтитом предъявляли жалобы, характерные для воспалительных заболеваний пародонта, а именно, кровоточивость десен при приеме твердой пищи и чистке зубов, деформация внешнего вида десны, боль в деснах, гноетечение, наличие зубных отложений, подвижность зубов, запах изо рта и затруднения при приеме твердой пищи (рисунок 2).

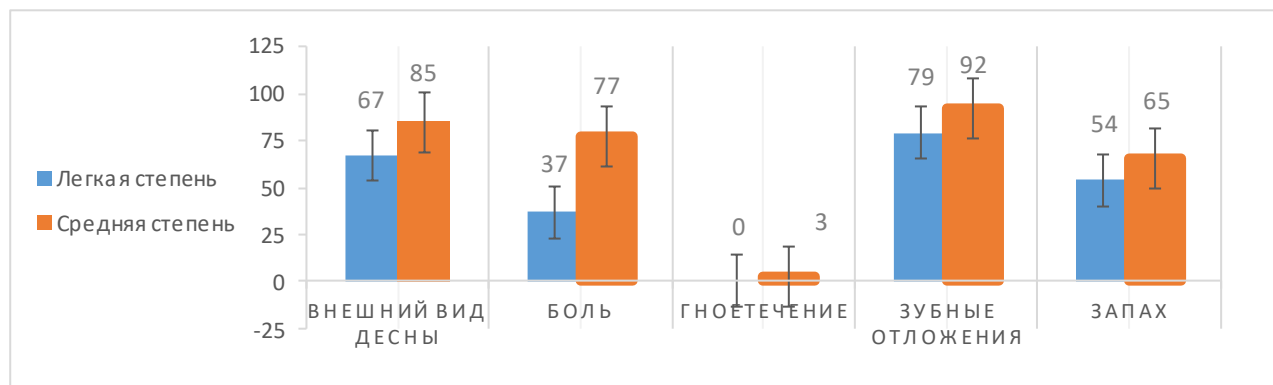


Рисунок 2. Распределение жалоб основной группы в зависимости от степени тяжести воспалительных заболеваний пародонта, %

Для качественной и количественной характеристик причин и симптомов заболевания пародонта использовали ряд общепринятых индексов. Установлено, что среднее значение индекса гигиены (ОНИ-S) в группе контроля составило 1,8 [1,5;2], а в основной группе - 2,5 [2;2,95] ($p < 0,001$). Другие изучаемые индексы в контрольной группе соответствовали норме, в том числе ИФ, значение которого было равно 1 (нормальное состояние костной ткани).

Индекс РМА в группе с ВЗП составил 69 [61,5;76], ($p < 0,001$); индекс Muhlemann-Saxer - 2,05 [2;3], ($p < 0,001$); подвижность зубов - 1 [0,9;1,1], ($p < 0,001$); Индекс Фукса 0,75 [0,7;0,8], ($p < 0,001$). Изучение результатов индексной оценки в группе с ХГП было проведено в подгруппах по степени тяжести. Результаты представлены в таблице 6.

Из представленных результатов следует, что пациенты обеих групп имели неудовлетворительный уровень гигиены ($p = 0,375$). Высокие средние значения индекса РМА были отмечены вне зависимости от степени тяжести пародонтита, однако более выраженные в подгруппе со средней степенью хронического пародонтита ($p < 0,001$). Средние значения индекса кровоточивости были незначительно выше в подгруппе со средней степенью тяжести ($p = 0,718$), также как и степень подвижности зубов ($p = 0,548$). По мере нарастания деструктивного процесса альвеолярной кости прогрессировали значения Индекса Фукса, так, в подгруппе с легкой степенью тяжести средние значения

составили 0,75[0,7;0,8], что соответствует резорбции костной ткани на 1/3 длины корня, в подгруппе со средней степенью тяжести 0,73[0,65;0,8] потеря альвеолярной костной ткани на 1/2 длины корня ($p=0,387$).

Таблица 6 - Распределение показателей индексной оценки в зависимости от степени тяжести воспалительных заболеваний пародонта, Me [Q1;Q3]

Исследуемый признак	Степень тяжести воспалительных заболеваний пародонта		p-уровень
	Легкая степень	Средняя степень	
ОHI-S	2,25[2;2,85]	2,55[2;3]	0,375
PMA	67 [59;73,5]	75[74;78]	$p<0,001$
Muhlemann-Saxer	2[2;3]	2,5[2;3]	0,718
Подвижность зубов по Энтину	1[0,9;1,1]	1[0,75;1,1]	0,548
Индекс Fuchs (Фукса)	0,75[0,7;0,8]	0,73[0,65;0,8]	0,387

Примечание: уровень p рассчитывали при помощи критерия Манна-Уитни.

Изучение индекса CPI продемонстрировали следующие результаты: кровоточивость десны распространена в 51,8%, минерализованные зубные отложения (над- и поддесневой зубной камень) у 66,1%, глубина пародонтального кармана до 4 мм у 76% и у 24% до 5 мм.

Кровоточивость десны в основной группе выявлена в 51,8 % случаев (интенсивность $0,2\pm 0,69$ секстанта). Минерализованные зубные отложения (зубной камень) зафиксирован в 66,1 % случаев (интенсивность $1,56\pm 0,16$ секстанта). У 76% пациентов выявлен пародонтальный карман до 4 мм (интенсивность $0,84\pm 0,19$ секстанта), а до 5 мм у 24 % (интенсивность $0,31\pm 0,14$ секстанта). Анализ распространения клинических признаков хронического пародонтита по секстантам установил: кровоточивость во 2 секстанте не обнаружена, интактные ткани пародонта в 96,43%. Пародонтальный карман до

4 мм обнаружен у 3,6%, до 5 мм - 1,8%. Вероятно, это связано с более тщательной гигиеной и эстетической составляющей зубов фронтального отдела верхней челюсти. В 5 секстанте количество минерализованных зубных отложений - 82,4%, пародонтальные карманы глубиной до 4 мм зафиксированы в 14,3%.

Таким образом, полученные результаты анализа пародонтального статуса у больных хроническим пародонтитом показывают, что при данной патологии происходит значимое увеличение значений всех индексов оценки состояния тканей пародонта, причем показатели индексов гигиены, кровоточивости и пародонтального индекса возрастали с тяжестью заболевания.

3.3 Микробиологический статус и данные антибиотикорезистентности

В исследовании были оценены маркеры пародонтопатогенов зубодесневого\пародонтального кармана, колонизирующих экосистему при пародонтите. В группе пациентов с ХГП частота встречаемости пародонтопатогенов была 96,4 %. Наиболее часто регистрировали пародонтопатогены 1 порядка: *P.gingivalis* (91 %; $p < 0,001$), *T.forsythia* (99 %; $p < 0,001$) и *A. actinomycetemcomitans* (51 %; $p < 0,001$). Среди пародонтопатогенов 2 порядка доминировали *T.denticola* (94 %; $p = 0,054$), в 90 % выделена *P.intermedia* ($p < 0,001$), реже *C. albicans* (47 %; $p < 0,001$), был выделен с наименьшей частотой (Рисунок 3).

В ходе настоящего исследования были выявлены ассоциации пародонтопатогенов. В основной группе ассоциация *A. actinomycetemcomitans* с каждым из следующих микроорганизмов: *P.gingivalis*, *P.intermedia* и *T.forsythia*, была обнаружена в 50% случаев, а также в 49% случаев установлена коагрегация из трех пародонтопагенов 1 порядка.

В контрольной группе в основном были выявлены пародонтопатогены 2 порядка: *T.denticola* (23,2%) и *P.intermedia* (6,35%). *A. actinomycetemcomitans* идентифицирован в 3,18% случаев (n=2), *P.gingivalis* - 14,29% (n=9), *T.forsythia* - 33,3% (n=21) и 4,76% *C. albicans*. Ассоциации были установлены в 1,59%

случаев: *A. actinomycetemcomitans*+*P.gingivalis*+ *T.forsythia*+ *P.intermedia* (n=1), а также *P.gingivalis*+ *T.denticola* в 7,94% (n=5).

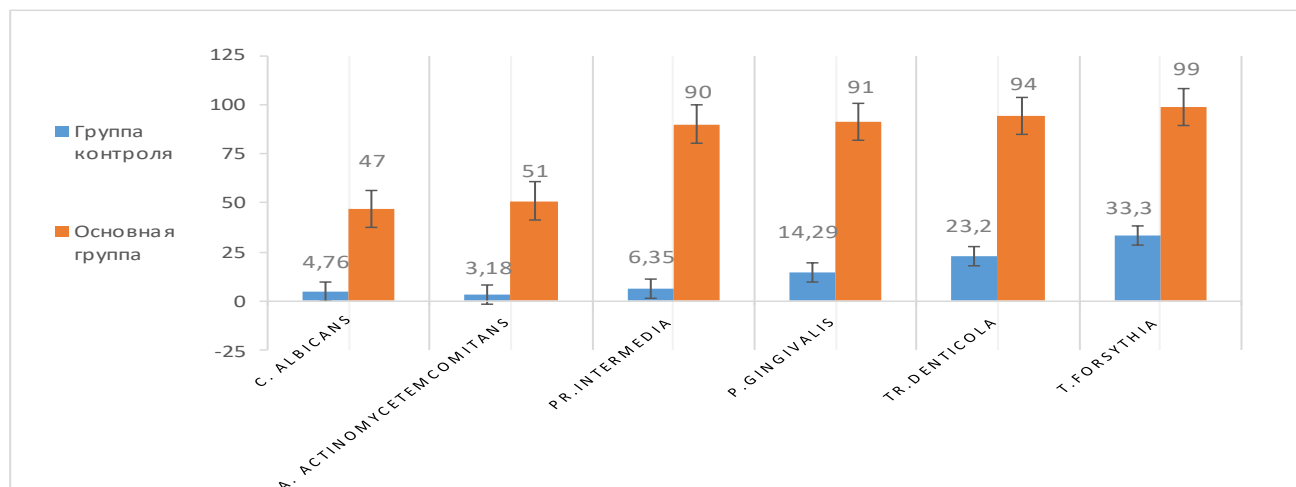


Рисунок 3. Встречаемость пародонтопатогенных микроорганизмов у лиц с хроническим генерализованным пародонтитом, %

Количественный анализ содержания пародонтопатогенов в группе с хроническим пародонтитом показал явное преобладание *P.gingivalis* 3,7 [2,7; 4,15] lg КОЕ/мл и *T.forsythia* 3,15 [2,1; 4] lg КОЕ/мл. Наименьшее содержание зарегистрировано в отношении *A. actinomycetemcomitans* 0,9 [0; 2,1] lg КОЕ/мл и *C. albicans* 0 [0;1] lg КОЕ/мл, что соответствовало норме (до 2 lg КОЕ/мл). Результаты содержания выделенных пародонтопатогенов в группах представлены в таблице 7 (lg КОЕ/мл).

Таблица 7 - Количественный уровень пародонтопатогенов в смывах зубодесневого\пародонтального кармана в группах (Me [Q1;Q3], lg КОЕ/мл)

Пародонтопатогены	Допустимые значения[62]	Исследуемые группы		Уровень p
		Контроль	ХГП	
<i>Agg.actinomycetemcomitans</i>	< 2	0	0,9 [0; 2,1]	p<0,001
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	< 2	0	3,7 [2,7; 4,15]	p<0,001
<i>Tannerella forsythia</i>	< 2	0 [0;1]	3,15 [2,1; 4]	p<0,001
<i>Treponema denticola</i>	< 3	0	2,1 [1,9; 2,8]	p<0,001
<i>Prevotella intermedia</i>	< 2	0 [0;1]	2,5 [1,8; 2,85]	p<0,001
<i>Candida albicans</i>	< 2	0	0 [0;1]	p<0,001

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни.

Исследование количественного содержания приоритетных пародонтопатогенов, в зависимости от степени тяжести хронического пародонтита, в основной группе позволило зафиксировать статистически значимые различия в отношении всех пародонтопатогенов, кроме *Agg.actinomycetemcomitans* и *C.albicans*. Данные представлены в таблице 8.

Таблица 8. Количественное содержание пародонтопатогенов в смывах пародонтального кармана в подгруппах по степени тяжести (Me [Q1;Q3], Ig КОЕ/мл).

Пародонтопатогены	Степень тяжести		Уровень p
	Легкая	Средняя	
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	0,9 [0;2]	0,7 [0; 2,9]	p=0,339
<i>P. gingivalis</i>	3,4 [2,7;3,7]	4,25 [4; 4,55]	p<0,001
<i>T. forsythia</i>	2,7 [2;3,5]	4,4 [3,9; 4,6]	p<0,001
<i>T. denticola</i>	2,1 [1,85;2,8]	2,35 [2,1; 2,8]	p=0,031
<i>P. intermedia</i>	2,4 [1,7;2,65]	2,55 [2,5; 3,1]	p=0,015
<i>C. albicans</i>	0 [0;1]	0 [0;1,4]	p=0,725

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни.

Для выявления взаимосвязи степени деструкции костной ткани и частотой встречаемости пародонтопатогенов был проведен корреляционный анализ (таблица 9).

Таблица 9 - Корреляционный анализ степени деструкции костной ткани и маркерных пародонтопатогенных микроорганизмов пародонтального кармана

Показатель	Индекс Фукса в группе с хроническим пародонтитом	
	легкая степень	средняя степень
<i>P. gingivalis</i>	$r_s = 0,271$ (p = 0,031)	$r_s = 0,452$ (p = 0,042)
<i>T. forsythia</i>	$r_s = 0,243$ (p = 0,021)	$r_s = 0,512$ (p = 0,016)
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	$r_s = 0,231$ (p = 0,040)	$r_s = 0,276$ (p = 0,042)
<i>Tr. denticola</i>	$r_s = 0,152$ (p = 0,029)	$r_s = 0,278$ (p = 0,050)
<i>P. intermedia</i>	$r_s = 0,267$ (p = 0,035)	$r_s = 0,278$ (p = 0,047)
Ассоциации пародонтопатогенов	$r_s = 0,175$ (p = 0,041)	$r_s = 0,323$ (p = 0,037)

Маркеры устойчивости к метициллину (MecA) обнаружены у лиц с ХГП в 15 % случаев, а в группе с интактным пародонтом – 6,35 % ($p = 0,0948$). Гены устойчивости к карбапенемам выявлены в группе ХГП в 9% случаев (оха-51-like).

Изучение генов антибиотикорезистентности пародонтопатогенных бактерий в группе с ХГП свидетельствуют о высокой частоте (%) встречаемости генов устойчивости к антимикробным препаратам (АМП) группы β -лактамов. Из 15 генов устойчивости у обследуемых обнаружены 4 гена (таблица 10). Гены устойчивости к пенициллинам и цефалоспорином SHV и TEM выделен у 26 % и 72 % соответственно в группе с ХГП. В группе с интактным пародонтом ген SHV обнаружен у 4,76 % ($p < 0,001$), а ген TEM – у 41,27 % ($p < 0,001$).

Таблица 10 - Частота встречаемости генов устойчивости к АМП в группах, %

Группы генов АМП	Контроль (n=63)	ХГП (n=100)	p-уровень (χ^2 Пирсона)
Карбапенемы			
оха-23-like	Не обнаружено	Не обнаружено	
оха-40-like	Не обнаружено	Не обнаружено	
оха-48-like	Не обнаружено	Не обнаружено	
оха-51-like	Не обнаружено	9	$p = 0,014$
imp	Не обнаружено	Не обнаружено	
kpc	Не обнаружено	Не обнаружено	
ges	Не обнаружено	Не обнаружено	
ndm	Не обнаружено	Не обнаружено	
vim	Не обнаружено	Не обнаружено	
Метициллин			
mecA	6,35	15	$p = 0,094$
Ванкомицин			
vanA	Не обнаружено	Не обнаружено	
vanB	Не обнаружено	Не обнаружено	
Пенициллины и цефалоспорины			
tem	41,27	72	$p < 0,001$
ctx-M-1	Не обнаружено	Не обнаружено	
shv	4,76	26	$p < 0,001$

У контрольной группы выявлены 2 комбинации генов: TEM+ MecA и TEM+ SHV у 3,17% и 1,58% случаев соответственно. В группе ХГП обнаружены 8 комбинаций генов, содержащих 2, 3 или 4 маркера устойчивости к антимикробным препаратам (таблица 11). Наиболее часто встречающаяся комбинация TEM+ SHV (14%), что указывает на высокую АМР к β -лактамам антибактериальным препаратам.

Таблица 11 - Частота встречаемости комбинации генов антибиотикорезистентности (%)

Комбинации генов	Контроль	ХГП
TEM+ MecA	3,17	5
TEM+ SHV	1,58	14
TEM+ SHV+ MecA	0	2
OXA 51+TEM	0	1
OXA 51+ MecA	0	2
OXA 51+ MecA+TEM	0	3
OXA 51+ TEM+ SHV	0	1
OXA 51+ TEM+ SHV+ MecA	0	1

Таким образом, выявленные маркеры пародонтопатогенных бактерий свидетельствуют о высокой инвазии пародонтопатогенов 1 и 2 порядка у больных хроническим пародонтитом. Результаты проведенного исследования демонстрируют высокую распространенность генов антибиотикорезистентности, среди которых препараты первого выбора (β -лактамы антибиотики).

3.4 Показатели врожденного иммунитета

Хроническое воспаление пародонта обусловлено не только персистенцией субгингивальной бактериальной флорой, но и опосредованной продукцией провоспалительных цитокинов, индуцирующих врожденные иммунные реакции. Медиаторы воспаления выступают в роли одного из центральных звеньев патогенеза хронического пародонтита.

Результаты иммуноферментного анализа позволили получить данные о содержании провоспалительных цитокинов в зубодесневых (или пародонтальных) карманах исследуемых групп.

В отделяемом пародонтального кармана средние концентрации *IL-1 β* , в группе с хроническим генерализованным пародонтитом, составили 30,07 [17,06; 50,8] пг/мл, а в группе контроля содержание было 3,18 [2,35; 4,63] пг/мл ($p < 0,001$). Уровень *IL-6* в исследуемом материале основной группы составил 20,41 [15,09; 32,63], что в 10,5 раз превышает концентрацию *IL-6* в группе контроля - 1,94 [0,33; 3,52] ($p < 0,001$). Содержание *TNF- α* в отделяемом пародонтального кармана у пациентов с ХГП было 17,81 [13,55; 29,17], а в группе контроля - 1,74 [0; 3,14], $p < 0,001$. Средний уровень маркера sCD14 в отделяемом зубо-десневого кармана составили 2,13 [1,89; 2,76] нг/мл в группе с интактным пародонтом и 20,3 [17,3; 22,5] нг/мл в отделяемом пародонтального кармана в группе больных ХГП ($p < 0,001$).

Резюмируя вышесказанное, можно отметить, что уровень изучаемых медиаторов воспаления у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом значительно превышает концентрации у лиц с интактным пародонтом.

Результаты оценки уровней провоспалительных цитокинов и sCD14 в группе с ВЗП в зависимости от степени тяжести заболевания отражены в таблице 12. Концентрации изучаемых медиаторов в подгруппе со средней степенью тяжести в среднем вдвое выше, чем в подгруппе с легкой степенью.

Таблица 12 - Значения параметров врожденного иммунитета у пациентов основной группы в зависимости от степени тяжести, Me [Q1; Q3]

Медиаторы воспаления	Легкая степень тяжести	Средняя степень тяжести	p-уровень
<i>IL-1β</i>	21,45 [16,2; 40,89]	61,18 [26,14; 95,24]	$p < 0,001$
<i>IL-6</i>	16,88 [14,18; 21,75]	56,73 [47,78; 64,92]	$p < 0,001$
<i>TNF-α</i>	15,88 [13,05; 21,11]	35,77 [31,59; 38,11]	$p < 0,001$
sCD14	18,5 [17,2; 21,1]	23,55 [23,2; 25,45]	$p < 0,001$

Примечание: p рассчитывалось с помощью критерия Манна-Уитни

Изучение взаимосвязи уровней исследуемых показателей врожденного иммунитета и пародонтальных индексов выявили прямо пропорциональную связь с индексом РМА в отношении *IL-1 β* , *sCD14* и *TNF- α* . Однако, взаимосвязь *IL6* была зафиксирована в отношении всех изучаемых пародонтальных индексов. Данные отражены в таблице 13. Так, выраженность клинических пародонтальных проявлений положительно коррелировали с высокими уровнями медиаторов воспаления.

Таблица 13 - Корреляция уровня показателей иммунного статуса у пациентов основной группы с изучаемыми индексами состояния пародонта

Параметры	Иммунологические показатели			
	IL-1 β	IL-6	TNF- α	sCD14
ОИИ-S	rs=0,053 p=0,598	rs=0,430 p<0,001	rs=0,096 p=0,338	rs=0,102 p=0,308
РМА	rs=0,190 p=0,057	rs=0,787 p<0,001	rs=0,234 p=0,019	rs=0,246 p=0,013
Mulleman-Saxer	rs=-0,075 p=0,456	rs=0,745 p<0,001	rs=-0,001 p=0,992	rs=0,099 p=0,326
Подвижность по Энтину	rs=0,030 p=0,767	rs=0,689 p<0,001	rs=-0,139 p=0,165	rs=-0,078 p=0,439
Индекс Фукса	rs=-0,152 p=0,129	rs=-0,746 p<0,001	rs=-0,033 p=0,742	rs=0,098 p=0,327

Примечание: статистический анализ выполнен с помощью критерия Спирмена.

Корреляционный анализ Спирмена выполненный для оценки уровня взаимосвязей показателей врожденного иммунитета и исследуемых пародонтопатогенов установил прямо пропорциональную статистически значимую взаимосвязь между *IL-1 β* и *P. gingivalis* ($r_s = 0,514$; $p < 0,001$), *T.forsythia* ($r_s = 0,622$; $p < 0,001$) и *T. denticola* ($r_s = 0,470$; $p < 0,001$), а также между IL-6 и *Agg. actinomycetemcomitans* ($r_s = 0,459$; $p < 0,001$), *P. gingivalis* ($r_s = 0,757$; $p < 0,001$), *T.forsythia* ($r_s = 0,798$; $p < 0,001$), *T. denticola* ($r_s = 0,714$; $p < 0,001$) и *P. intermedia* ($r_s = 0,711$; $p < 0,001$). Прямая взаимосвязь средней силы в отношении *CD-14* и *TNF- α* была только с пародонтопатогеном 1 порядка - *T.*

forsythia ($r_s = 0,535$ ($p < 0,001$)) и $r_s = 0,506$ ($p < 0,001$) соответственно (таблица 14).

Таблица 14 - Взаимосвязь количественного состава пародонтопатогенов и иммунологических показателей у лиц с хроническим пародонтитом

Показатели	Пародонтопатогены					
	A. <i>actinomycetemcomitans</i>	P. <i>gingivalis</i>	T. <i>forsythia</i>	T. <i>denticola</i>	P. <i>intermedia</i>	C. <i>albicans</i>
IL-1 β	$r_s = 0,373$ $p < 0,001$	$r_s = 0,514$ $p < 0,001$	$r_s = 0,622$ $p < 0,001$	$r_s = 0,470$ $p < 0,001$	$r_s = 0,340$ $p < 0,001$	$r_s = 0,164$ $p = 0,104$
sCD-14	$r_s = 0,052$ $p = 0,605$	$r_s = 0,393$ $p < 0,001$	$r_s = 0,535$ $p < 0,001$	$r_s = 0,295$ $p = 0,002$	$r_s = 0,296$ $p = 0,0027$	$r_s = 0,0007$ $p = 0,994$
IL-6	$r_s = 0,459$ $p < 0,001$	$r_s = 0,757$ $p < 0,001$	$r_s = 0,798$ $p < 0,001$	$r_s = 0,714$ $p < 0,001$	$r_s = 0,711$ $p < 0,001$	$r_s = 0,388$ $p < 0,001$
TNF- α	$r_s = -0,025$ $p = 0,799$	$r_s = 0,363$ $p < 0,001$	$r_s = 0,506$ $p < 0,001$	$r_s = 0,303$ $p = 0,002$	$r_s = 0,225$ $p = 0,024$	$r_s = 0,043$ $p = 0,667$

Примечание: p-уровень рассчитан с помощью корреляционного анализа Спирмена

В ходе исследования установлена зависимость концентрации sCD14 (> или <17 нг/мл), с частотой регистрации пародонтопатогенов в группе больных хроническим пародонтитом. Так, при высоких концентрациях растворимого корцептора регистрировалось более высокая частота встречаемости пародонтопатогенов I и II порядка (Рисунок 4).

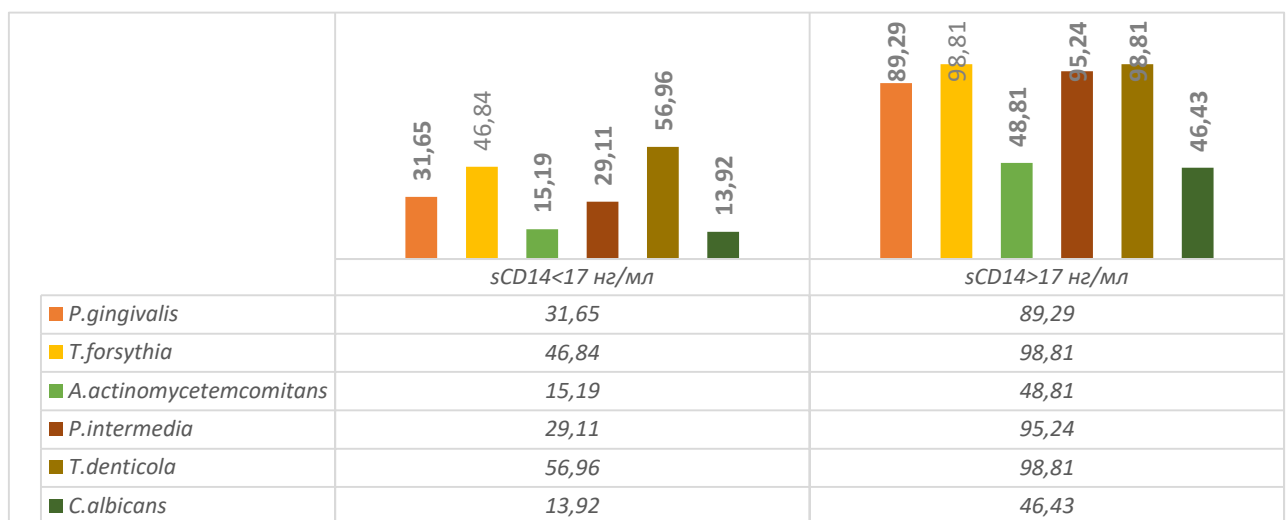


Рисунок 4. Частота встречаемости пародонтопатогенов при выбранных уровнях секреции sCD14 в группе пациентов с хроническим пародонтитом (%)

Примечание: для иммунного компонента sCD14 в качестве порогового значения выбрана медиана - 17 нг/мл.

Проведенный анализ взаимосвязи частоты встречаемости ассоциаций пародонтопатогенов и исследуемого показателя sCD14 показал, что средние значения корцептора были в 10 раз меньше в том случае, если был выделен один из исследуемых пародонтопатогенов (таблица 15).

Таблица 15 - Анализ взаимосвязи концентрации sCD14 с частоты встречаемости пародонтопатогенных бактерий, Me[Q1; Q3]

Пародонтопатогены	Показатель sCD14, Me[Q1;Q3]	p-уровень
Нет (1)	2,3[1,9;2,7]	p1-2=0,018
<i>P.gingivalis</i> или <i>T.forsythia</i>	2,6[2,0;17,3]	p2-3<0,001
Ассоциация <i>P.gingivalis</i> и <i>T.forsythia</i>	20,3[17,2-22,5]	p1-3<0,001

Регрессионный анализ показал, что шанс иметь значения *IL1β* в референсном интервале в 32 раза выше у пациентов с выявленным одним из пародонтопатогенов, чем их ассоциацией. В отношении *IL6* результат был аналогичен: шанс иметь референсные значения в 57,5 раз был выше у пациентов с одним из пародонтопатогенов, чем их ассоциацией (таблица 16).

Таблица 16 - Логистический регрессионный анализ уровня исследуемых цитокинов и выделяемых ассоциаций пародонтопатогенов

Пародонтопатогены	Медиаторы воспаления		
	IL-1β		
	Отношение шансов	95% ДИ	p-уровень
<i>P. gingivalis</i> или <i>T.forsythia</i>	32,3	10,6-98,4	<0,001
Ассоциация <i>P. gingivalis</i> + <i>T.forsythia</i>	1.0		
Пародонтопатогены	IL-6		
	Отношение шансов	95% ДИ	p-уровень
	<i>P. gingivalis</i> или <i>T.forsythia</i>	57,5	17,86-185,69
Ассоциация <i>P. gingivalis</i> + <i>T.forsythia</i>	1.0		

При изучении связи между параметрами врожденного иммунитета установили сильную положительную статистически значимую взаимосвязь (таблица 17).

Таблица 17 - Корреляционный анализ изучаемых показателей врожденного иммунитета

Медиаторы воспаления	IL-6	TNF- α	sCD14
IL-1 β	$r_s=0,868$; $p<0,001$	$r_s =0,814$; $p<0,001$	$r_s =0,815$; $p<0,001$
IL-6		$r_s =0,909$; $p<0,001$	
sCD14	$r_s =0,848$; $p<0,001$	$r_s =0,852$; $p<0,001$	

Таким образом, уровень изучаемых медиаторов воспаления у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом значительно превышает концентрации у лиц с интактным пародонтом. При регистрации ассоциаций пародонтопатогенов, концентрация sCD14 повышается, что свидетельствует о системном воспалении.

3.5 Цитологические особенности клеток буккального эпителия

Известно, что буккальный эпителий принимает непосредственное участие в механизмах врожденного иммунитета, в том числе за счет секреции сигнальных молекул, таких как цитокины (IL-6, 8 и другие), хемокины, эндотелин и других [64]. Интерес для исследователей представляет функциональное состояние клеток буккального эпителия при воспалительных заболеваниях пародонта, в качестве возможно прогностического критерия степени заболевания.

Анализ функциональных свойств эпителия щеки включает определение естественной колонизации микроорганизмами поверхности эпителиоцитов. Цитологическое исследование соскобов буккального эпителия выявил наличие нитей псевдомицелия и бластоспор грибов *C. albicans*, доминирующих в группе с хроническим генерализованным пародонтитом ($p=0,011$ и $p=0,024$). Кроме того, в основной группе (ХГП) преобладали представители кокковой флоры:

стафилококки (87,91%, $p=0,024$), стрептококки (67,03%, $p<0,001$) и диплококки (63,74%, $p=0,002$). В анализ реакции адсорбции микроорганизмов включали клетки с положительным индексом РАМ (РАМ+), при их количестве более 31%. Так, результаты показали, что неудовлетворительный РАМ выявлен в 47% случаев в группе с пародонтитом, в отличие от группы контроля (31,75%). Удовлетворительные результаты выявлены в 53% случаев в основной группе и 68,25% в группе с интактным пародонтом ($p=0,136$).

В микропрепаратах буккального эпителия больных пародонтитом выявлен частично разрушенный неэпителиальный компонент. Встречались единичные лимфоциты, нейтрофилы и макрофаги. В 3% случаев выявлено проникновение в эпителиоциты лейкоцитов. Индекс дифференцировки эпителиоцитов в группе с ХГП был неудовлетворительными в 84% случаев, что в 1,65 раза превышает данные группы контроля (50,79%, $p=0,0001$). Средние значения результатов РАМ, ИДК и ИК представлены на рисунке 5.

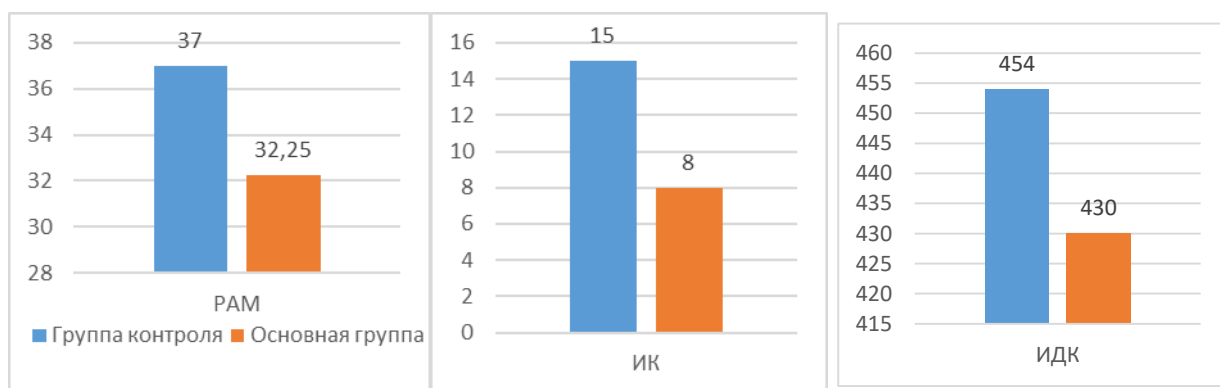


Рисунок 5. Средние значения результатов индексной оценки буккального эпителия (Me, абс.ч)

Барьерная функция слизистой оболочки рта характеризуется степенью ее ороговения. В качестве критерия выбран Индекс кератинизации (ИК), результаты которого в группе с пародонтитом были в основном неудовлетворительными - 91%, $p=0,064$. Удовлетворительные показатели кератинизации в группе контроля выявлены у 53,97%. Результаты продемонстрированы в таблице 18.

Таблица 18 - Индексная оценка соскоба-мазка эпителия щеки
в изучаемых группах (%)

Индексы	Результат	Группа контроля (n=63)	Пациенты с ВЗП (n=100)	p-уровень
ИДК	неудовлетворительный	50,79	84	p<0,001
	удовлетворительный	49,21	16	
ИК	неудовлетворительный	46,03	91	p = 0,064
	удовлетворительный	53,97	9	
РАМ	неудовлетворительный	31,75	47	p = 0,136
	удовлетворительный	68,25	53	

Важной морфологической характеристикой эпителиоцитов является ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО), изменение которого может служить признаком воспалительных реакций и связанных с этим компенсаторными механизмами. Площадь ядра (Сядра) увеличивалась при пародонтите (9,92 [9,01;10,69] в основной группе и 9,15 [8,46;9,73], p<0,001, в контрольной). Площадь цитоплазмы (Сцитоплазмы) наоборот уменьшалась: 48,45 [45,18;51,95] в группе контроля и 48,19[45,19;51,66], p=0,701. Несмотря на отсутствие статистически значимой разницы, ядерно-цитоплазматического отношения: в основной группе ЯЦО было 0,199[0,184; 0,220], а в группе контроля 0,188 [0,177; 0,202], при p<0,001. Результаты представлены на рисунок 6.

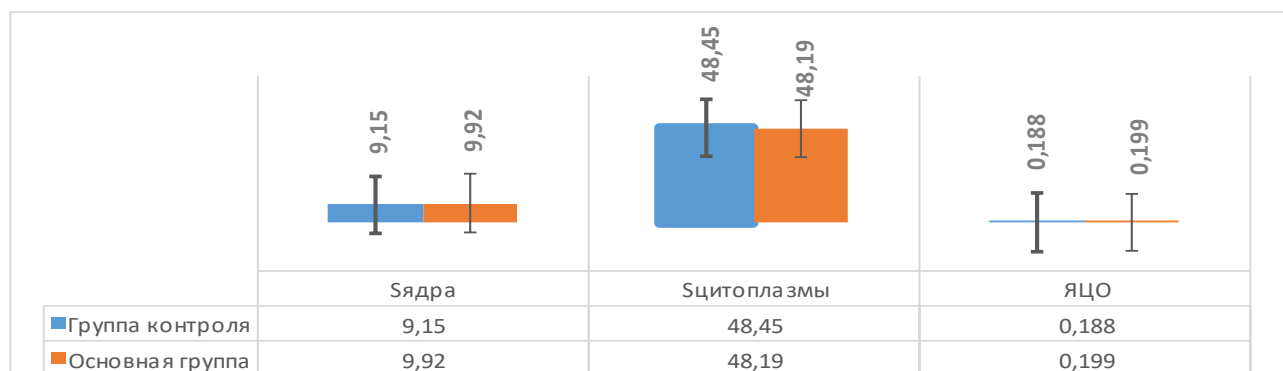


Рисунок 6. Результаты изучения ядра и цитоплазмы эпителиоцитов слизистой щеки в исследуемых группах, (мкм²)

Анализ встречаемости цитологических нарушений позволил разделить их на группы: цитогенетические аномалии, показатели пролиферации и показатели апоптоза. В основной группе с большей частотой регистрировали наличие микроядер (86%) и протрузий (68%), среди показателей пролиферации двуядерные клетки (68%), показателей апоптоза (кариорексис (17%) и кариорексис (12%)) (рисунок 7).

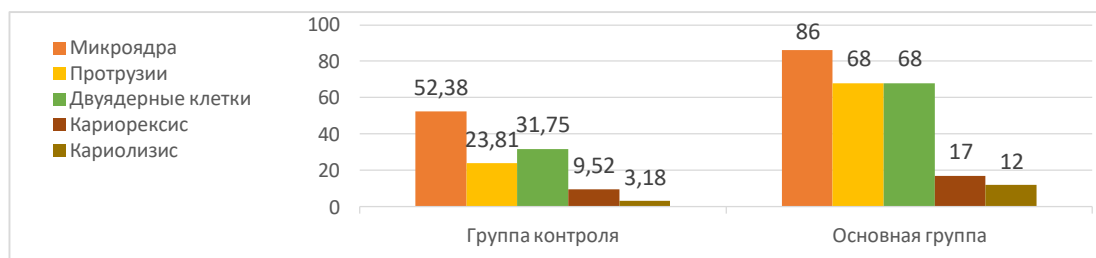


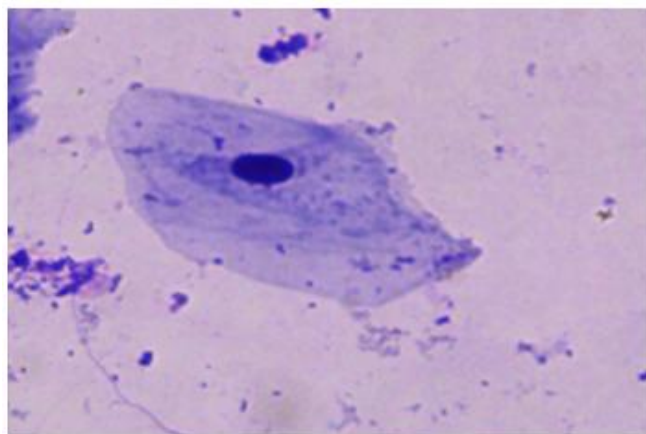
Рисунок 7. Встречаемость цитологических аномалий в исследуемых группах, %

В группе контроля выявлены следующие нарушения: микроядра (52,38%), протрузии (23,81%), двуядерные клетки (31,75%), кариорексис (9,52%) и кариолизис (3,18%). Показателей деструкции ядра у лиц, со здоровым пародонтом выявлено не было. Клетки с кариопикнозом не были обнаружены в обеих группах (таблица 19). Микропрепараты представлены на рисунках 8-10.

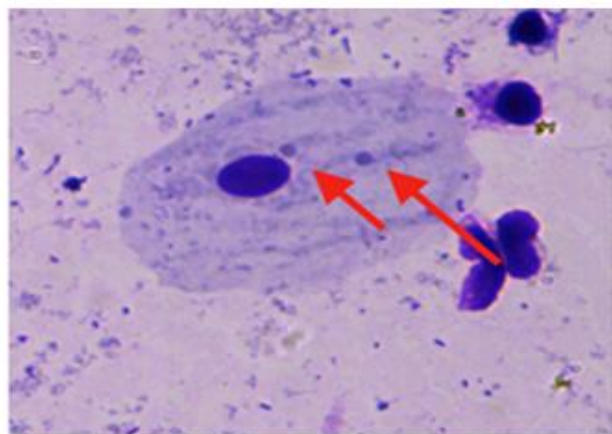
Таблица 19 - Средние значения и пределы варьирования кариологических показателей клеток буккального эпителия обследуемых групп, Me [Q1;Q3]

Показатели	Me [Q1;Q3]		Уровень p
	Группа контроля	Основная группа	
Частота клеток с микроядрами	1[0;2]	7[2,5;9]	p<0,001
Частота клеток с протрузиями	0	1[0;5]	p<0,001
Частота клеток с двуядерными клетками	0[0;1]	4,5[0;11]	p<0,001
Частота клеток с кариорексисом	0	0	p=0,172
Частота клеток с кариолизисом	0	0	p=0,055

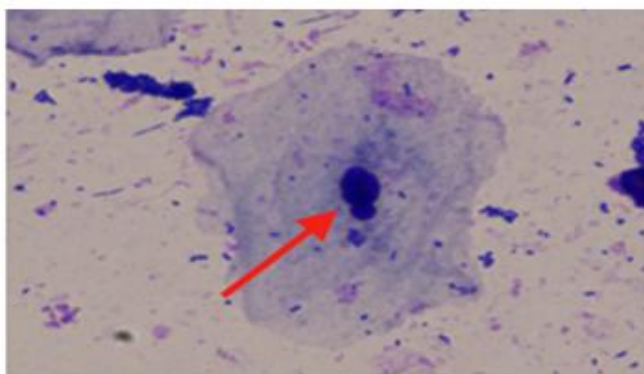
Примечание: p-уровень рассчитывали при помощи критерия Манна-Уитни



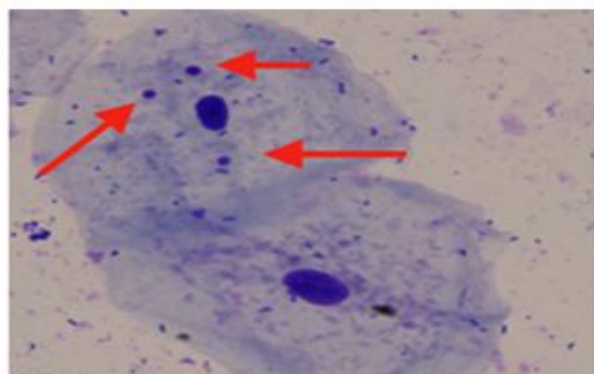
Норма



Клетка с микроядрами



Протрузия ядра



Клетка с множеством микроядер

Рисунок 8. Цитогенетические аномалии в клетках буккального эпителия у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта

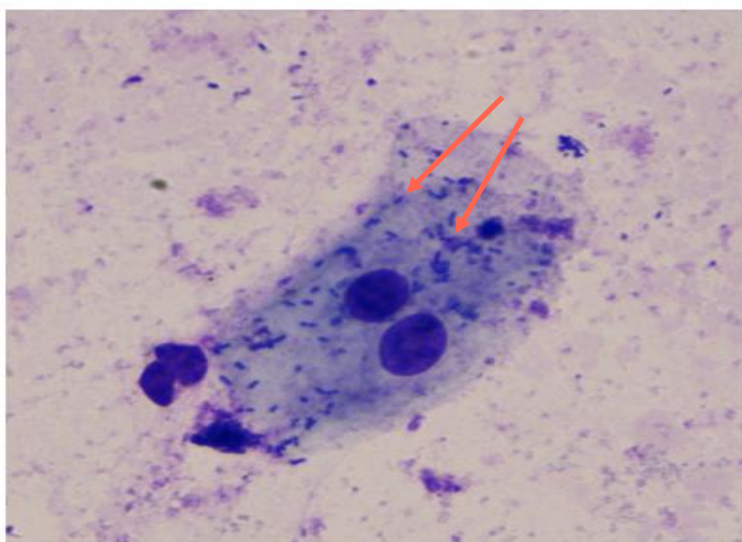


Рисунок 9. Показатели пролиферации в клетках буккального эпителия у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта. Примечание: двуядерная клетка (красная стрелка)

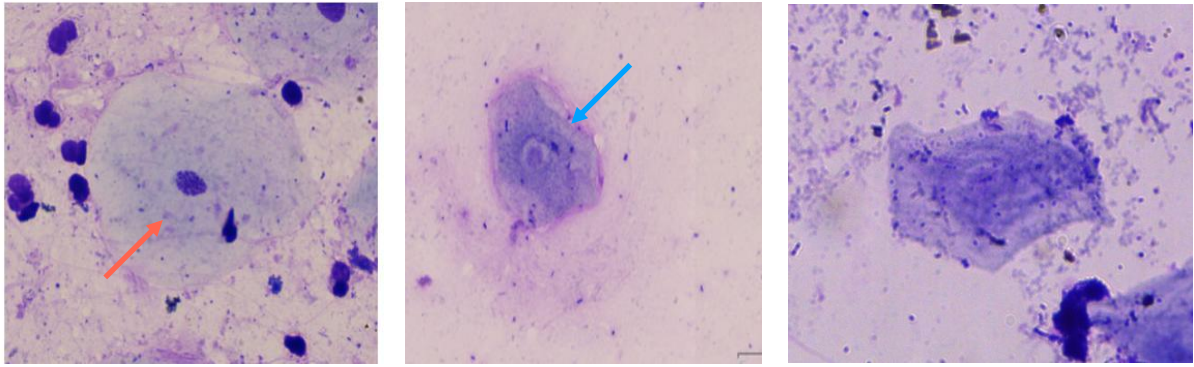


Рисунок 10. Показатели апоптоза в клетках буккального эпителия у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта. Примечание: показатели апоптоза: kariorekسيس (красная стрелка), kariolизис (синяя стрелка) и безъядерная клетка

Для оценки прогностической модели - значимости количества микроядер при прогнозировании пародонтита применялся метод ROC-кривых (рисунок 11). Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза наличия пародонтита и количества микроядер, составила 0,835 (95% доверительный интервал: 0,773-0,897). Полученная прогностическая модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение регистрации микроядер в точке cut-off равно 3,5. При значении, равном или превышающем данное значение, возможно прогнозировать высокий риск пародонтита. Чувствительность и специфичность метода составили 70,0% и 88,9% соответственно.

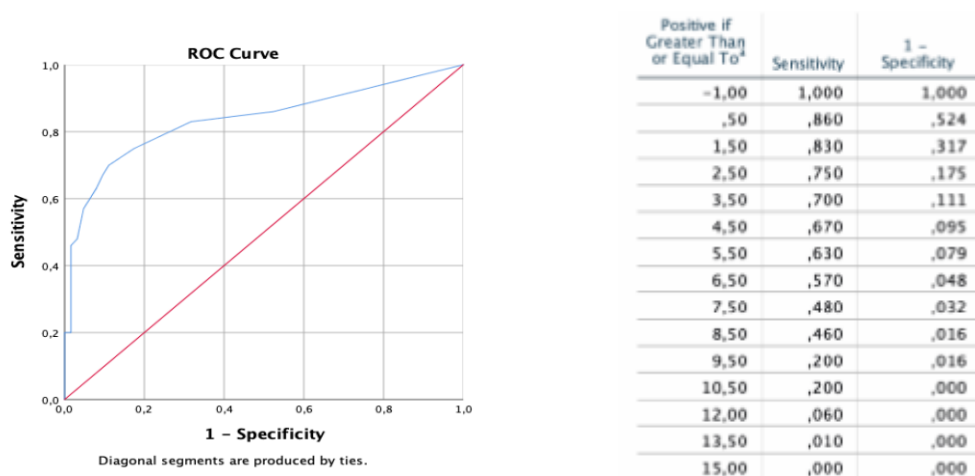


Рисунок 11. ROC-кривая частоты встречаемости микроядер в буккальном эпителии

Для выявления взаимосвязи между изучаемыми пародонтопатогенами и клеточными аномалиями эпителия щеки в изучаемых группах был проведен корреляционный анализ (таблицы 20 и 21).

Таблица 20 - Корреляционный анализ цитологических нарушений клеток эпителия щеки и пародонтопатогенов 1 порядка

Цитологические аномалии	A. <i>actinomycetemcomitans</i>	P. <i>gingivalis</i>	T. <i>forsythia</i>	Ассоциация <i>P.gingivalis</i> и <i>T.forsythia</i>
Микроядра	$r_s=0,247$ $p=0,001$	$r_s=0,525$ $p<0,001$	$r_s=0,551$ $p<0,001$	$r_s=0,501$ $p<0,001$
Протрузия	$r_s=0,070$ $p=0,370$	$r_s=0,261$ $p<0,001$	$r_s=0,356$ $p<0,001$	$r_s=0,258$ $p=0,001$
Двухъядерные клетки	$r_s=0,181$ $p=0,020$	$r_s=0,459$ $p<0,001$	$r_s=0,487$ $p<0,001$	$r_s=0,404$ $p<0,001$
Кариорексис	$r_s=0,052$ $p=0,506$	$r_s=0,042$ $p=0,594$	$r_s=0,089$ $p=0,254$	$r_s=0,052$ $p=0,503$
Кариолизис	$r_s=0,085$ $p=0,279$	$r_s=0,239$ $p=0,002$	$r_s=0,115$ $p=0,142$	$r_s=0,147$ $p=0,060$
ЯЦО	$r_s=0,132$ $p=0,092$	$r_s=0,161$ $p=0,040$	$r_s=0,328$ $p<0,001$	$r_s=0,182$ $p=0,019$

Таблица 21 - Корреляционный анализ цитологических нарушений клеток эпителия щеки и пародонтопатогенов 2 порядка

Цитологические аномалии	P. <i>intermedia</i>	T. <i>denticola</i>	C. <i>albicans</i>
Микроядра	$r_s=0,521$ $p<0,001$	$r_s=0,493$ $p<0,001$	$r_s=0,266$ $p=0,001$
Протрузия	$r_s=0,329$ $p<0,001$	$r_s=0,355$ $p<0,001$	$r_s=0,158$ $p=0,020$
Двухъядерные клетки	$r_s=0,493$ $p<0,001$	$r_s=0,506$ $p<0,001$	$r_s=0,215$ $p=0,005$
Кариорексис	$r_s=-0,001$ $p=0,999$	$r_s=0,026$ $p=0,736$	$r_s=0,014$ $p=0,857$
Кариолизис	$r_s=0,088$ $p=0,261$	$r_s=0,166$ $p=0,033$	$r_s=0,141$ $p=0,071$
ЯЦО	$r_s=0,144$ $p=0,064$	$r_s=0,211$ $p=0,006$	$r_s=0,140$ $p=0,074$

Результаты проведенного анализа выявленных аномалий клеток эпителия щеки и маркеров пародонтопатогенных микроорганизмов позволили установить выраженную прямую корреляционную зависимость средней степени между наличием клеток с микроядрами и всеми бактериями, кроме

A.actinomycescomitans, а также с ассоциацией *P.gingivalis* и *T.forsythia*. Однако, при оценке корреляций тех же критериев по подгруппам взаимосвязь была выявлена только в подгруппе с воспалительными заболеваниями пародонта. Так, отмечены прямо пропорциональные корреляции между наличием микроядер и следующими пародонтопатогенами: *P.gingivalis* ($r_s=0,222;p=0,026$), *T.forsythia* ($r_s =0,311;p=0,0016$) и *T.denticola* ($r_s =0,213;p=0,033$). Также прямые корреляции выявлены между двуядерными клетками и некоторыми пародонтопатогенами: *P.gingivalis* ($r_s=0,199;p=0,046$), *T.forsythia* ($r_s =0,234;p=0,018$), *T.denticola* ($r_s =0,226;p=0,023$) и *P.intermedia* ($r_s =0,223;p=0,025$).

Анализ взаимосвязи изменения факторов иммунного реагирования и функционального состояния клеток буккального эпителия проводили при помощи корреляционного анализа Спирмена. В виду низкой частоты встречаемости показателей апоптоза, они были исключены из анализа. Данные представлены в таблице 22.

Таблица 22 - Результаты корреляционного анализа цитологических аномалий и медиаторов воспаления

Цитогенетические нарушения	sCD14	IL1 β	IL6	TNF- α
Микроядра	$r_s=0,536$ $p<0,001$	$r_s =0,544$ $p<0,001$	$r_s =0,607$ $p<0,001$	$r_s =0,562$ $p<0,001$
Протрузии	$r_s =0,334$ $p<0,001$	$r_s =0,354$ $p<0,001$	$r_s =0,363$ $p<0,001$	$r_s =0,365$ $p<0,001$
Двуядерные клетки	$r_s =0,436$ $p<0,001$	$r_s =0,460$ $p<0,001$	$r_s =0,475$ $p<0,001$	$r_s =0,468$ $p<0,001$

Анализ взаимосвязи цитологических нарушений буккального эпителия с маркерами эндотелиальной дисфункции выявил статистически значимую прямо пропорциональную взаимосвязь средней силы между всеми молекулами адгезии и количеством микроядер, а также менее выраженную с двуядерными клетками (таблица 23).

Таблица 23 - Корреляционный анализ цитоморфологических изменений и растворимых молекул эндотелиальной дисфункции

Цитогенетические нарушения	sVCAM	sICAM	sE-селектин	sL-селектин
Микроядра	rs=0,530 p<0,001	rs=0,490 p<0,001	rs=0,423 p<0,001	rs=0,441 p<0,001
Протрузии	rs=0,228 p=0,003	rs=0,243 p=0,001	rs=0,349 p<0,001	rs=0,292 p<0,001
Двухъядерные клетки	rs=0,357 p<0,001	rs=0,366 p<0,001	rs=0,346 p<0,001	rs=0,392 p<0,001

В результате исследования выявлены статистически значимые различия в функциональном состоянии клеток буккального эпителия в исследуемых группах. Определена взаимосвязь между цитогенетическими нарушениями и состоянием врожденного иммунитета, а также изучаемыми показателями эндотелиальной дисфункции.

3.6 Эндотелиальная дисфункция

Развитие хронического пародонтита связано с нарушениями микроциркуляции вследствие дисфункции эндотелия. В результате инвазии пародонтопатогенных бактерий, отличающихся высокими факторами агрессии, изменяется экспрессия молекул межклеточной адгезии суперсемейства иммуноглобулинов sICAM-1, sVCAM, селектинов sE- и sL-селектина в межклеточную жидкость, что приводит к нарушениям антикоагулянтных, антиагрегантных, фибринолитических и барьерных функций эндотелия [60,88].

В процессе исследования были изучены концентрации молекул межклеточной адгезии в группах с интактным пародонтом и с хроническим генерализованным пародонтитом. Так, было установлено значительное повышение содержания растворимых форм молекул адгезии суперсемейства иммуноглобулинов sICAM-1 и sVCAM отделяемого пародонтального кармана в основной группе в 11,45 раз и в 17,3 раза соответственно (p<0,001 и p<0,001).

Анализ активности экспрессии sL- и sE-селектинов у пациентов с ХГП также выявил повышение концентрации по сравнению с пациентами с интактным пародонтом, однако не такое значительное: в 2,5 и 3 раза соответственно ($p < 0,001$ и $p < 0,001$). Результаты представлены в таблице 24.

Таблица 24 - Уровень экспрессии молекул межклеточной адгезии в исследуемых группах, Me [Q1; Q3] нг/мл

Молекулы адгезии	Группа контроля	Основная группа	p-уровень
sICAM-1	6,9[3,2;9,8]	79,05[69,35;87,35]	$p < 0,001$
sVCAM	4,2[2,1;6,9]	72,8[58,45;83,5]	$p < 0,001$
sL-селектин	4,8[3,6;7,4]	12[9,2;14,2]	$p < 0,001$
sE-селектин	2,3[0,7;3,7]	6,9[5,4;7,8]	$p < 0,001$

При изучении уровня экспрессии молекул межклеточной адгезии с учетом степени тяжести ХГП статистически значимая разница была зафиксирована только в отношении sVCAM ($p = 0,016$), несмотря на то, что увеличение концентрации всех изученных молекул адгезии наблюдалось в подгруппе со средней степенью тяжести ХГП (таблица 25).

Таблица 25 - Уровень экспрессии молекул межклеточной адгезии у больных ХГП в подгруппах по степени тяжести хронического пародонтита, Me[Q1;Q3] нг/мл

Молекулы адгезии	Легкая степень тяжести	Средняя степень тяжести	p-уровень
sICAM-1	78,5[69,35;85,45]	79,05[69,35;87,35]	$p = 0,951$
sVCAM	68,85[56,75;82,35]	78,3[67,7;89,05]	$p = 0,016$
sL-селектин	11,3[9,2;14,2]	13,35[9,5;14,65]	$p = 0,215$
sE-селектин	6,5[5,4;7,7]	6,85[4,8;7,8]	$p = 0,977$

Для изучения клинической значимости концентрации маркеров эндотелиальной дисфункции в оценке степени тяжести прогрессирования

пародонтита были проанализированы корреляционные взаимосвязи между исследуемыми индексами и концентрацией молекул адгезии (таблица 26).

Таблица 26 - Корреляционный анализ молекул адгезии и индексов

Показатели	sL-селектин	sE-селектин	sICAM-1	sVCAM
Индекс OHIS	$r_s=0,306, p<0,001$	$r_s=0,353, p<0,001$	$r_s=0,398, p<0,001$	$r_s=0,348, p<0,001$
Индекс РМА	$r_s=0,591, p<0,001$	$r_s=0,778, p<0,001$	$r_s=0,735, p<0,001$	$r_s=0,775, p<0,001$
Индекс кровоточивости (Mulleman-Sacher)	$r_s=0,617, p<0,001$	$r_s=0,691, p<0,001$	$r_s=0,723, p<0,001$	$r_s=0,767, p<0,001$
Подвижность зубов	$r_s=0,623, p<0,001$	$r_s=0,731, p<0,001$	$r_s=0,739, p<0,001$	$r_s=0,746, p<0,001$
Индекс Фукса	$r_s=-0,671, p<0,001$	$r_s=-0,665, p<0,001$	$r_s=-0,751, p<0,001$	$r_s=-0,765, p<0,001$

Выявлено, что повышение концентрации растворимых молекул межклеточной адгезии коррелировало с тяжестью проявления пародонтита. Выявлена прямая корреляция с показателями индексов РМА и Mulleman-Sacher, а также с подвижностью зубов и обратная с индексом Фукса, более выраженная для суперсемейства иммуноглобулинов.

С целью более глубокого анализа возможных взаимосвязей между количественным содержанием изучаемых пародонтопатогенов и уровнями растворимых молекул межклеточной адгезии был проведен корреляционный анализ полученных результатов (таблица 27).

Таблица 27 - Корреляционная матрица молекул адгезии и пародонтопатогенов

Показатели	sL-селектин	sE-селектин	sICAM-1	sVCAM
<i>A. actinomycetem-comitans</i>	$r_s=0,339; p<0,001$	$r_s=0,372; p<0,001$	$r_s=0,431; p<0,001$	$r_s=0,381; p<0,001$
<i>P. gingivalis</i>	$r_s=0,523; p<0,001$	$r_s=0,602; p<0,001$	$r_s=0,639; p<0,001$	$r_s=0,650; p<0,001$
<i>T. forsythia</i>	$r_s=0,594; p<0,001$	$r_s=0,613; p<0,001$	$r_s=0,666; p<0,001$	$r_s=0,703; p<0,001$
<i>P. intermedia</i>	$r_s=0,620; p<0,001$	$r_s=0,579; p<0,001$	$r_s=0,668; p<0,001$	$r_s=0,643; p<0,001$
<i>T. denticola</i>	$r_s=0,607; p<0,001$	$r_s=0,620; p<0,001$	$r_s=0,663; p<0,001$	$r_s=0,636; p<0,001$
<i>C.albicans</i>	$r_s=0,304; p<0,001$	$r_s=0,329; p<0,001$	$r_s=0,353; p<0,001$	$r_s=0,413; p<0,001$

Наиболее сильные взаимосвязи выявлены в отношении пародонтопатогенов 1 порядка *P. gingivalis* и *T. forsythia*, и 2 порядка *P. intermedia* и *T. denticola*.

Повышение концентрации растворимых молекул межклеточной адгезии вероятно связаны с повышением уровней провоспалительных цитокинов, являющихся основными регуляторами их экспрессии. В рамках проведенного исследования был проведен корреляционный анализ с изучаемыми медиаторами воспаления, в результате которого были выявлены статистически значимые прямо пропорциональные взаимосвязи средней силы в отношении семейства селектинов, и сильные взаимосвязи в отношении супер-семейства иммуноглобулинов (таблица 28).

Таблица 28 - Корреляционная матрица
молекул межклеточной адгезии и медиаторов воспаления

Показатели	sL-селектин	sE-селектин	sICAM-1	sVCAM
<i>IL-1β</i>	$r_s=0,630$ $p<0,001$	$r_s=0,679$ $p<0,001$	$r_s=0,739$ $p<0,001$	$r_s=0,701$ $p<0,001$
<i>IL-6</i>	$r_s=0,651$ $p<0,001$	$r_s=0,661$ $p<0,001$	$r_s=0,735$ $p<0,001$	$r_s=0,755$ $p<0,001$
<i>TNF-α</i>	$r_s=0,637$ $p<0,001$	$r_s=0,665$ $p<0,001$	$r_s=0,698$ $p<0,001$	$r_s=0,747$ $p<0,001$
<i>sCD14</i>	$r_s=0,611$ $p<0,001$	$r_s=0,697$ $p<0,001$	$r_s=0,746$ $p<0,001$	$r_s=0,758$ $p<0,001$

Таким образом, уровень молекул межклеточной адгезии был значительно выше в группе с хроническим пародонтитом, пропорционально тяжести заболевания. Выявлены корреляционные взаимосвязи с пародонтопатогенными бактериями преимущественно 1 порядка и факторами врожденного иммунитета.

3.7 Динамика изменений

клинических параметров у больных ХГП на этапах лечения

Всем участникам исследования вне зависимости от предложенного способа медикаментозного лечения был проведен комплекс мероприятий: индикация зубных отложений с последующей профессиональной гигиеной рта, включая удаление микробной биопленки, с помощью ультразвукового скейлера удалены над- и поддесневые минерализованные зубные отложения, полировка поверхности корня, по показаниям – кюретаж. Всем пациентам было проведено индивидуальное гигиеническое обучение с контролируемой чисткой зубов и подбором средств гигиены.

Затем пациентам было проведено лечение в зависимости от выбранной тактики по подгруппам: 1 подгруппа – традиционное лечение, согласно клиническим рекомендациям (протоколы лечения) по диагнозу «Пародонтит» [32,52]; 2 подгруппа – предложенный способ лечения (последовательное применение геля с бактериофагом и пробиотика). Схема представлена на рисунке 12.



Рисунок 12. Схема лечения хронического генерализованного пародонтита по подгруппам

После проведенного первого этапа лечения (14 дней) все больные отметили положительную динамику, а именно: уменьшение кровоточивости

десен во время чистки зубов и приеме твердой пищи, отсутствие дискомфорта, боли, отека и запаха изо рта. Но, в первой подгруппе (30%) по-прежнему клинически определялись патологические изменения, характерные для пародонтита: частично гиперемирован десневой край, кровоточивость, изменение конфигурации десневых сосочков. Во второй подгруппе наблюдалась клинически положительная динамика. Показатели пародонтальных индексов имели позитивную динамику (таблица 34). Индекс ОНІ-S в 1 подгруппе снизился с 2,5 до 1,5[1;1,8] (удовлетворительная), а во 2 подгруппе с 2,05[2;2,9] до 1[1;1,3] (Δ в 1 подгруппе: -1,1[-1,5; -0,5], а во 2 подгруппе -1,2[-1,8; -0,8], $p_{\Delta}=0,198$). Индекс РМА уменьшился в обеих подгруппах, так в 1 подгруппе он составил 18 [15;20], во 2 подгруппе - 15 [10;15] (Δ в 1 подгруппе: -51,5[-60; -43], а во 2 подгруппе -55[-63; -47], $p_{\Delta}=0,252$). Индекс кровоточивости тканей пародонта Muhlemann-Saxer (ИК) в 1 подгруппе составил - 1 [1;2] (Δ : -1,3[-2;-1]), во второй подгруппе - 1 [0;1] (Δ : -2[-2; -1], $p_{\Delta}=0,001$).

Через 1 месяц приема пробиотического препарата во 2 подгруппе при клиническом осмотре ткани пародонта имели естественный цвет и форму. При зондировании в пришеечной области десна достаточно плотно охватывала твердые ткани зубов, кровоточивость не обнаружена. Показатели пародонтальных индексов и индекса гигиены приближались к нормальным средним показателям. Прием пробиотического препарата с штаммом *ssK12* не влиял на значение индекса ОНІ-S 1[1;1,3]. Индекс РМА составил 10 [5;15] (Δ : -5[-10; 0]), $p_{\Delta}=0,001$), а ИК - 0 [0;1] (Δ : 0[-1; 0]), $p_{\Delta}=0,001$).

По прошествии 3х месяцев после завершения курса лечения пациенты 1 подгруппы вновь стали жаловаться на кровоточивость десен при приеме твердой пищи и во время чистки зубов. Объективный осмотр выявил признаки воспалительного процесса. У пациентов 2 подгруппы клинически не было обнаружено признаков хронического воспаления. Жалобы отсутствовали, десна имела бледно-розовую окраску, при пальпации безболезненна, конфигурация десневого края стабилизировалась, прилегала к зубам в пришеечной области и

межзубных промежутках. После лечения был выявлен более четкий костный рисунок: отсутствие прерывистости замыкательной кортикальной пластинки вершин межзубных перегородок. Средние показатели индекса Фукса имели положительную динамику. Результаты индекса ОНI-S были 1,3[1;1,6] в 1 подгруппе и 1[1;1,3] во второй; индекса РМА - 31 [22;37] и 17 [14;22], ИК - 2 [2;3] и 1 [0;1], соответственно по подгруппам.

При изучении изменения индекса ОНI-S в исследуемых группах в зависимости от степени тяжести хронического пародонтита, не смотря на динамику средних значений, при изучении разницы не было установлено статистически значимой разницы в показателе после лечения: у больных с легкой степенью тяжести ХГП в 1 подгруппе значение индекса было 1,5 [1;1,8] (Δ : -1,2 [-1,5;-0,6]), а во 2 - [1;1,3] (Δ : -1,2 [-1,7;-0,8], $p_{\Delta}=0,566$). У лиц с ХГП средней степени тяжести показатель был 1,5 [1,4;1,8] (Δ : -0,6 [-1,6; -0,3]) в 1 подгруппе и 1 [1;1,2] во 2 подгруппе (Δ : -1,6 [-2;-0,8], $p_{\Delta} =0,141$). Следует отметить, статистически значимой разницы до лечения в подгруппах по степеням тяжести выявлено не было (таблица 29).

Таблица 29 - Значение индекса ОНI-S в изучаемых подгруппах с учетом степени тяжести заболевания, (Me [Q1;Q3])

Хронический генерализованный пародонтит		До лечения		
		1 подгруппа (традиционное лечение)	2 подгруппа (предложенный способ)	p-уровень
легкой степени тяжести		2,5 [2;3]	2 [2; 2,6]	p=0,169
средней степени тяжести		2,4 [2; 3]	2,6 [2;3]	p=0,747
После лечения				
легкой степени тяжести	Me [Q1;Q3]	1,5 [1;1,8]	1 [1; 1,3]	p=0,003
	Δ	-1,2 [-1,5;-0,6]	-1,2 [-1,7; -0,8]	$p_{\Delta} =0,566$
средней степени тяжести	Me [Q1;Q3]	1,5 [1,4; 1,8]	1 [1;1,2]	p=0,028
	Δ	-0,6 [-1,6;-0,3]	-1,6 [-2;-0,8]	$p_{\Delta} =0,141$

Примечание: p-уровень рассчитывали с помощью критерия Манна-Уитни, Δ -разница между показателями до и после лечения; p_{Δ} - сравнение разницы показателей.

Изменение индекса РМА в подгруппах по степеням тяжести представлено в таблицах 30 и 31.

Таблица 30 - Значение индекса РМА в изучаемых подгруппах в зависимости от степени тяжести заболевания до лечения (Me [Q1;Q3])

Хронический генерализованный пародонтит	До лечения		
	1 подгруппа (традиционное лечение)	2 подгруппа (предложенный способ)	p-уровень
легкой степени тяжести	68 [61;73]	67[59; 74]	p=0,721
средней степени тяжести	78 [75; 83]	75[74;76]	p=0,072

Таблица 31 - Значение индекса РМА в изучаемых подгруппах с учетом степени тяжести хронического пародонтита после проведенного лечения (Me [Q1;Q3])

Хронический генерализованный пародонтит		После лечения			p-уровень
		1 подгруппа	2 подгруппа		
		После традиционного лечения (14 дней)	После лечения бактериофагом (14 дней)	После лечения пробиотиком (1 месяц)	
легкой степени тяжести	Me [Q1;Q3]	18 [15;21]	15[10; 20]	10[5; 15]	p1-2=0,001 p1-3<0,001
	Δ	-49 [-57;-42]	-53 [-59;-44]	-5 [-10;0]	p Δ 1=0.347 p Δ 2=0.004
средней степени тяжести	Me [Q1;Q3]	18 [16; 20]	15[10;15]	10[5;13]	p1-2=0,003 p1-3<0,001
	Δ	-61 [-64;-55]	-61 [-65;-59]	-5 [-5;-2]	p Δ 1=0,702 p Δ 2=0,044

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни, Δ -разница между показателями до и после лечения, p1-2 – сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p1-3 - сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения выбранными препаратами; p Δ 1– сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p Δ 2-сравнение разницы показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения выбранными препаратами

При проведении анализа индекса кровоточивости в зависимости от степени тяжести ХГП выявлено, что в 1 подгруппе у лиц с легкой степенью тяжести ХГП, ИК по завершению курса лечения составил 1 [1;2] (Δ : 0[0; 0]), а во 2 подгруппе 0 [0;1] (Δ : -2[-2;-1], p Δ <0,001). У лиц со средней степенью

тяжести ХГП средние показатели ИК в 1 подгруппе составили 1[1;2] (Δ : 0[0; 0]), а во 2 подгруппе 1[0;1] (Δ : -2[-2; -1], $p_{\Delta}=0,011$). Изменение ИК представлено в таблицах 32 и 33.

Таблица 32 - Значение индекса кровоточивости Muhlemann-Saxer в изучаемых подгруппах в зависимости от степени тяжести заболевания до лечения (Me[Q1;Q3])

Хронический генерализованный пародонтит	До лечения		
	1 подгруппа (традиционное лечение)	2 подгруппа (предложенный способ)	p-уровень
легкой степени тяжести	2,5 [2;3]	2[2; 3]	p=0,898
средней степени тяжести	2,5 [1,7;3]	3[2;3]	p=0,393

Таблица 33 - Значение индекса Muhlemann-Saxer в подгруппах с учетом степени тяжести заболевания после проведенного лечения (Me[Q1;Q3])

Хронический генерализованный пародонтит		После лечения			
		После традиционного лечения (14 дней)	После лечения бактериофагом (14 дней)	После лечения пробиотиком (1 месяц)	p-уровень
легкой степени тяжести	Me [Q1;Q3]	1 [1;2]	1 [0; 1]	0 [0;1]	p1-2<0,001 p1-3<0,001
	Δ	0[0;0]	0[0;1]	-2[-2;-1]	p Δ 1=0.003 p Δ 2<0.001
средней степени тяжести	Me [Q1;Q3]	1 [1;2]	1 [1;1]	1 [0;1]	p1-2=0,051 p1-3=0,005
	Δ	0[0;0]	0[0;0]	-2[-2;-1]	p Δ 1=0.168 p Δ 2=0.011

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни, Δ -разница между показателями до и после лечения, p1-2 – сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p1-3 - сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения выбранными препаратами; p Δ 1– сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p Δ 2- сравнение разницы показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения выбранными препаратами

Для оценки эффективности предложенных способов лечения дополнительно был выбран индекс Улитовского. Так, в 1 подгруппе он составил 73,9%, а во 2 подгруппе после лечения гелем на основе бактериофагов

78,4 %. Комплексное лечение с последовательным применением предложенных препаратов позволило достичь эффективности 85,6 %.

Таким образом, результаты клинического обследования показали эффективность альтернативного варианта лечения с помощью бактериофага и пробиотика, что нашло отражение в анализе жалоб и индексной оценки.

Таблица 34 - Результаты индексной оценки на этапах лечения в исследуемых подгруппах

Индексы	До лечения		р	Усл. обозначения	После лечения			р-уровень
	Подгруппа 1	Подгруппа 2			Подгруппа 1	Подгруппа 2		
						Традиционное лечение (через 14 дней)	Фагодент (через 14 дней)	
РМА	69 [62;78]	69,5 [61;76]	p=0,654	Me[Q1;Q3]	18 [15;20]	15 [10;15]	10[5;15]	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ <0,001
				Δ	-51[-60;-43]	-55[-63;-47]	-5[-10;0]	p _{Δ1} =0.252 p _{Δ2} =0.011
ОНИ-S	2,5[2;3]	2,05 [2;2,9]	p=0,329	Me[Q1;Q3]	1,5[1;1,8]	1 [1;1,3]	1 [1;1,3]	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ <0,001
				Δ	-1.1[-1.5;-0.5]	-1.1[-1.5;-0.5]	0[0;0]	p _{Δ1} =0.198 p _{Δ2} =0.162
Muhlemann-Saxer	2,5 [2;3]	2 [2;3]	p=0,767	Me[Q1;Q3]	1 [1;2]	1 [0;1]	0 [0;1]	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ <0,001
				Δ	-1,3[-2;-1]	-2[-2; -1]	0[-1; 0]	p _{Δ1} =0.001 p _{Δ2} <0,001
Степень подвижности зубов	1 [1;1,7]	1 [0,75;1]	p=0,005	Me[Q1;Q3]	0,81 [0;1,5]	0,77 [0,5;0,9]	0,5[0;0,6]	p ₁₋₂ =0,217 p ₁₋₃ =0,146
				Δ	-0.1[-1;0]	-0,2[-0,4;-0,11]	-0,3[-0,5;0]	p _{Δ1} <0,001 p _{Δ2} =0.030
Индекс Фукса	0,75 [0,7;0,8]	0,75 [0,7;0,8]	p=0,806	Me[Q1;Q3]	0,8 [0,8;0,83]		0,85[0,8; 0,9]	p ₁₋₃ =0,005
				Δ	0.05[0;0.15]		0,1[0,05;0,2]	p _{Δ2} =0.067

Примечание: р-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни, Δ-разница между показателями до и после лечения, p₁₋₂–сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p₁₋₃-сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения выбранными препаратами; p_{Δ1}–сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p_{Δ2}-сравнение разницы показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения. ИФ представлен в таблице до лечения и через месяц.

3.8 Динамика изменения лабораторных показателей у больных хроническим генерализованным пародонтитом в зависимости от проводимого лечения

По результатам наших исследований, до начала лечения, количественное содержание изучаемых пародонтопатогенов в пародонтальном кармане в подгруппах по способу лечения не выявлено статистически значимой разницы, за исключением *P. gingivalis* (3,2[2,7;4] в 1 подгруппе и 3,7 [2,9;4,2] во 2, $p=0,028$). Количественная оценка содержания бактерий в пародонтальном кармане, в подгруппах по степеням тяжести хронического пародонтита, различия выявила только в отношении *P. gingivalis* (подгруппа легкой степени тяжести, $p=0,037$) и *T. forsythia* (подгруппа средней степени тяжести, $p=0,010$). Подробные данные представлены в таблице 35.

Таблица 35 - Результаты количественного выявления пародонтопатогенов в подгруппах по степени тяжести хронического пародонтита

Me [Q1;Q2], lg КОЕ/мл

До лечения					
Пародонтопатогены	1 подгруппа (традиционное лечение)		p-уровень	2 подгруппа (предложенный способ)	
	Легкая степень	Средняя степень		Легкая степень	Средняя степень
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0,9 [0;1,3]	0 [0;3,5]	$p_{1-2}=0,852$ $p_{3-4}=0,972$	0 [0;2,1]	1,4 [0;2,4]
<i>P. gingivalis</i>	2,7 [1,2;3,5]	4,2 [3,3;4,3]	$p_{1-2}=0,037$ $p_{3-4}=0,319$	3,4 [2,7;3,9]	4,3 [4;4,6]
<i>T. forsythia</i>	2,2 [2;2,1]	3,8 [3,5;4]	$p_{1-2}=0,303$ $p_{3-4}=0,010$	2,9 [2;3,5]	4,6 [4,3;4,6]
<i>T. denticola</i>	1,9 [1,3;2,3]	2,1 [1,3;2,9]	$p_{1-2}=0,140$ $p_{3-4}=0,502$	2,1 [1,9;2,8]	2,4 [2,3;2,8]
<i>P. intermedia</i>	2,2 [1,7;2,7]	2,5 [1,7;3,1]	$p_{1-2}=0,846$ $p_{3-4}=0,350$	2,5 [1,7;2,6]	2,6 [2,5;3,3]
<i>C. albicans</i>	0 [0;1]	1 [0;1,6]	$p_{1-2}=0,887$ $p_{3-4}=0,199$	0 [0;1]	0 [0;0,7]

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни; p_{1-2} - сравнение показателей в подгруппе с легкой степенью тяжести; p_{3-4} - сравнение показателей в подгруппе со средней степенью тяжести.

Общая бактериальная масса до лечения в 1 подгруппе составила 5,95 [5,5;6,9] lg КОЕ/мл и 6,1 [5,5;7,2] lg КОЕ/мл во 2 подгруппе ($p=0,540$). После завершения всех лечебных мероприятий в 1 подгруппе бактериальная масса уменьшилась и составила - 4,4 [3,5;5] lg КОЕ/мл, а во 2 подгруппе 0 [0;1,1] lg КОЕ/мл ($p<0,001$).

На фоне проводимого лечения у больных генерализованным пародонтитом обеих групп отмечалось определенное снижение частоты выявления в содержимом пародонтального кармана пародонтопатогенных бактерий (рисунок 13). Обращает на себя внимание достоверное снижение в 1 подгруппе содержания пародонтопатогенов 2 порядка: *P.intermedia* - 0,81[0,8;0,83], *T. denticola* 0,81[0;1,5]. При этом количество пародонтопатогенов 1 порядка, а именно *P.gingivalis* 1,5[1;1,8] и *T.forsythia* 1,7[0,7;2,1] оставалось достаточно высоким. Необходимо отметить, что после проведенного лечения в 1 подгруппе с наибольшей частотой были выявлены ассоциации *P.gingivalis+P.intermedia+T.forsythia* - 53,3% случаев, *P.gingivalis+T.forsythia+A.actinomycetemcomitans* - 53,3% случаев. В 20% случаев выявлена коагрегация *P.gingivalis+T.forsythia* и в 6,67% *P.gingivalis+P.intermedia*.

Содержание пародонтопатогенных бактерий во 2 подгруппе значительно снизилось после применения геля с бактериофагами. Количественное содержание пародонтопатогенов 1 порядка составило: *A.actinomycetemcomitans*- 0,15 [0;1], *P.gingivalis* - 1 [1;1,3] и *T.forsythia* - 1,35[1,1;1,9]. Количество пародонтопатогенов 2 порядка после первого этапа лечения составило: *T. denticola* 0,89 [0;1] и *P.intermedia* 0,84 [0,82;0,87]. Различия в снижении пародонтопатогенной флоры после лечения согласно протоколам лечения и первого этапа с применением геля с бактериофагами были статистически значимы в отношении всех пародонтопатогенов, за исключением *P.intermedia* ($p=0,783$) и *S.albicans* ($p=0,152$).

Применение пробиотика на втором этапе позволило достичь существенного снижения пародонтальной флоры. Так содержание *A.actinomycetemcomitans* составило 0 lg КОЕ/мл и *S. albicans* - 0 [0;1], *P.gingivalis* - 0,7 [0,5;1,0], *T.forsythia*

0,9 [0,5;1,1], *T. denticola* - 0,55[0;1] и *P.intermedia* 0,69 [0,66; 0,82]. Сравнение результатов с полученными данными в ходе лечения в 1 подгруппе выявили статистически значимую разницу ($p < 0,001$) для всех пародонтопатогенов, за исключением *A.actinomycetemcomitans* ($p=0,078$), *T.forsythia* ($p=0,188$) и *C.albicans* ($p=0,152$).

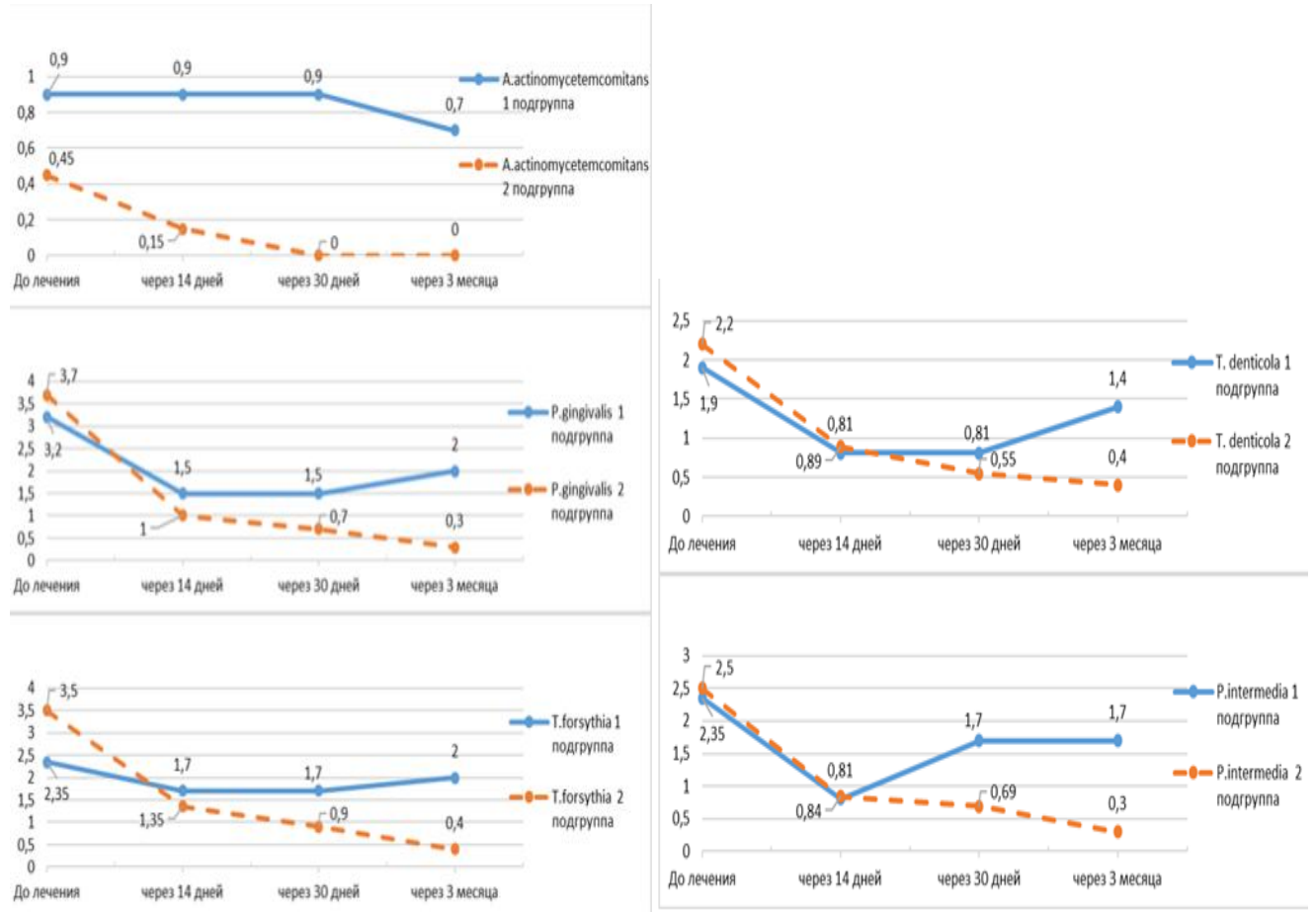


Рисунок 13. Изменение уровня пародонтопатогенов в исследуемых группах до и после лечения (lg КОЕ/мл).

Анализ содержания пародонтопатогенов в подгруппах в зависимости от степени тяжести заболевания представлен в таблицах 36_а и 36_б.

Таблица 36_а-Содержание пародонтопатогенов в подгруппах с легкой степенью тяжести ХГП, IgKOE/мл

Пародонтопатогены		Подгруппа 1 традиционное лечение	Подгруппа 2 (предложенный способ лечения)			
			Фагодент (через 14 дней)	p-уровень	SSk12 (через 1 месяц)	p-уровень
A. <i>actinomycetemcomitans</i>	Me [Q1;Q2]	0,9[0;1]	0[0;1]	p=0,432	0[0;0]	p<0,001
	Δ	0[-0,2;0]	0[-1,1;0]	p _Δ =0,060	0[-1;0]	p _Δ =0,082
<i>P. gingivalis</i>	Me [Q1;Q2]	2,5[1,2;3]	1[0;1,7]	p<0,001	0[0;0]	p<0,001
	Δ	-0,2[-0,5;0]	-2,3[-2,75;-1,7]	p _Δ <0,001	-1[-1,5;0]	p _Δ <0,001
<i>T. forsythia</i>	Me [Q1;Q2]	2[1,5;2,7]	0,9[0;1,4]	p<0,001	0[0;0]	p=0,622
	Δ	-0,3[-0,5;-0,2]	-2[-2,7;-1]	p _Δ <0,001	-0,15[-1;0]	p _Δ =0,233
<i>T. denticola</i>	Me [Q1;Q2]	1[0;1]	0[0;0]	p<0,001	0[0;0]	p<0,001
	Δ	-1,1[-1,9;-0,3]	-2,1[-2,5;-1,7]	p _Δ =0,003	0[0;0]	p _Δ <0,001
<i>P. intermedia</i>	Me [Q1;Q2]	1,1[0;1,3]	1[0;1,3]	p=0,352	0[0;0]	p<0,001
	Δ	-1,1[-1,7;-0,9]	-1,3[-1,9;-0,9]	p _Δ =0,481	-1[-1,4;0]	p _Δ <0,001
<i>C. albicans</i>	Me [Q1;Q2]	0[0;0,9]	0[0;0]	p<0,001	0[0;0]	p<0,001
	Δ	0[-0,4;0]	0[-1;0]	p _Δ =0,083	0[0;0]	p _Δ =0,083

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни; данные представлены в виде десятичного логарифма; p_Δ-сравнение разницы результатов лечения исследуемых групп в подгруппах с легкой степенью тяжести пародонтита.

Таблица 36_б-Содержание пародонтопатогенов в подгруппах со средней степенью тяжести ХГП, IgKOE/мл

Пародонтопатогены		Подгруппа 1 традиционное лечение	Подгруппа 2 (предложенный способ лечения)			
			Фагодент(через 14 дней)	p-уровень	SSk12 (через 1 месяц)	p-уровень
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Me [Q1;Q2]	0[0;3,1]	0,5[0;1]	p=0,683	0[0;0]	p=0,021
	Δ	0[-0,4;0]	-0,7[-1,9;0]	p _Δ =0.341	-0,4[-1;0]	p _Δ =0.610
<i>P. gingivalis</i>	Me [Q1;Q2]	3,5[2,7;3,7]	1,3[1,25;2]	p<0,001	0[0;0]	p<0,001
	Δ	-0,7[-1,5;-0,3]	-3,05[-3,55;-2,3]	p _Δ <0,001	-1,3[-2;-1]	p _Δ <0,001
<i>T. forsythia</i>	Me [Q1;Q2]	3[2;3,1]	1,8[1;2]	p=0,003	0[0;1,1]	p=0,487
	Δ	-0,7[-1;-0,4]	-2,7[-3,6;-2,5]	p _Δ <0,001	-1[-1,8;0]	p _Δ =0.373
<i>T. denticola</i>	Me [Q1;Q2]	1[0;1]	0[0;0]	p=0,023	0[0;0]	p<0,001
	Δ	-1,3[-1,9;-1,1]	-2,4[-2,7;-2,1]	p _Δ =0,028	0[0;0]	p _Δ =0.009
<i>P. intermedia</i>	Me [Q1;Q2]	1,2[1;1,4]	1,4[1,1;1,7]	p=0,179	0[0;0]	p<0,001
	Δ	-1,4[-1,5;-1,1]	-1,1[-1,5;-0,9]	p _Δ =0.425	-1,4[-1,7;-1,1]	p _Δ =0.002
<i>C. albicans</i>	Me [Q1;Q2]	1[0;1]	0[0;0]	p=0,001	0[0;0]	p=0,001
	Δ	-0,1[-0,6;0]	0[-0,7;0]	p _Δ =0.831	0[0;0]	p _Δ =0.831

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни; данные представлены в виде десятичного логарифма; p_Δ-сравнение разницы результатов лечения исследуемых групп в подгруппах со средней степенью тяжести пародонтита.

Установлена статистически значимая разница для всех микроорганизмов, за исключением *A.actinomycetemcomitans* ($p=0,060$ - легкая степень тяжести и $p=0,341$ - средняя степень тяжести), *P.intermedia* ($p=0,481$ - легкая степень тяжести и $p=0,425$ - средняя степень тяжести) и *C.albicans* ($p=0,083$ и $p=0,831$ соответственно) при сравнении результатов в 1 подгруппе и во 2 подгруппе через 14 дней от начала лечения. Анализ содержания пародонтопатогенных бактерий пародонтальных карманов по окончании проводимого лечения также выявил статистически значимую разницу для всех микроорганизмов, кроме *A.actinomycetemcomitans* ($p=0,082$ - легкая степень тяжести и $p=0,610$ - средняя степень тяжести), *T.forsythia* ($p=0,233$ - легкая степень тяжести и $p=0,373$ - средняя степень тяжести) и *C.albicans* ($p=0,083$ и $p=0,831$ соответственно) (таблица 37).

Результаты молекулярно-генетического анализа через 3 месяца после окончания лечения идентифицировали низкое содержание пародонтопатогенов во 2 подгруппе (рисунок 13). Так, абсолютное количество *Agg.actinomycetemcomitans* было $0[0;1]$, *P.gingivalis* $0,3[0;0,5]$, *T.forsythia* $0,4[0;0,75]$, *Tr. denticola* $0,25[0;0,37]$, *Pr.intermedia* $0,3[0;0,54]$ и *C. albicans* - $0 [0;1]$. В 1 подгруппе количественный состав микроорганизмов представлен следующим образом: *Agg.actinomycetemcomitans* было $0,7[0,5;1]$, *P.gingivalis* $2[1,7;2,4]$, *T.forsythia* $1,7[1,3;2,2]$, *Tr. denticola* $1,4[1;1,9]$, *Pr.intermedia* $1,7[1,2;2,4]$ и *C. albicans* - $0,65[0;1]$.

Таблица 37 - Результаты молекулярно-генетического исследования количественного содержания пародонтопатогенов в пародонтальном кармане у сравниваемых подгрупп (lg КОЕ/мл)

Приоритетные пародонтопатогены	До проводимого лечения			Усл. обозначения	После проведенного лечения			
	Подгруппа 1	Подгруппа 2	p		Подгруппа 1 (через 14 дней)	Подгруппа 2		Уровень p
					Фагодент	SSk12		
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0,9 [0;1,4]	0,45 [0;2,3]	p=0,782	Ме [Q1;Q2]	0,9 [0;1,3]	0,15 [0;1]	0	p1=0,376;p2<0,001
				Δ	0[0,3;0]	0[-1,2;0]	0[-1;0]	p _{Δ1} =0,035;p _{Δ2} =0,078
<i>P. gingivalis</i>	3,2[2,7;4]	3,7 [2,9;4,2]	p=0,028	Ме [Q1;Q2]	1,5[1;1,8]	1 [1;1,3]	0,7 [0,5;1,0]	p1<0,001;p2<0,001
				Δ	-0,3[-0,6;0]	-2,45[-3,1;-1,7]	-1[-1,5;0]	p _{Δ1} <0,001; p _{Δ2} <0,001
<i>T. forsythia</i>	2,35[2;3,7]	3,5[2,1;4,1]	p=0,115	Ме [Q1;Q2]	1,7[0,7;2,1]	1,35[1,1;1,9]	0,9[0,5;1,1]	p1<0,001;p2=0,905
				Δ	-0,4[-0,5;-0,2]	-2,3[-2,9;-1,2]	-0,15[-1;0]	p _{Δ1} <0,001; p _{Δ2} =0,188
<i>T. denticola</i>	1,9[1,3;2,8]	2,2 [1,9;2,8]	p=0,091	Ме [Q1;Q2]	0,81[0;1,5]	0,89 [0;1]	0,55[0;1]	p1<0,001;p2<0,001
				Δ	-1,15 [-1,9;-0,9]	-2,1[-2,6;-1,8]	0[0;0]	p _{Δ1} <0,001;p _{Δ2} <0,001
<i>P. intermedia</i>	2,35[1,7;2,7]	2,5 [1,9;2,9]	p=0,743	Ме [Q1;Q2]	0,81[0,8;0,83]	0,84 [0,82;0,87]	0,69 [0,66; 0,82]	p1=0,824;p2<0,001
				Δ	-1,25 [-1,5-0,9]	-1,1[-1,7;-0,9]	-1[-1,4;0]	p _{Δ1} =0,783;p _{Δ2} <0,001
<i>C. albicans</i>	0,7[0;1]	0 [0;1]	p=0,408	Ме [Q1;Q2]	0,3 [0;1]	0 [0;1]	0 [0;1]	p1<0,001;p2<0,001
				Δ	0[-0,4;0]	0[-1;0]	0[0;0]	p _{Δ1} =0,152;p _{Δ2} =0,152

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни, Δ-разница между показателями до и после лечения, p1-2-сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p1-3-сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения выбранными препаратами; p_{Δ1}-сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p_{Δ2}-сравнение разницы показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения.

Исследование уровня цитокинов до лечения не выявило статистически значимых различий в подгруппах. Так, содержание *IL1 β* в исследуемых группах был 20,2[15,1; 47,9] в 1 подгруппе и 31,3[17,3; 57,12] во 2 подгруппе ($p=0,134$). После лечебных мероприятий (через 14 дней) в 1 подгруппе уровень снизился и составил 12,88 [10,5; 26,8], $\Delta-6.5[-20,2;-3,2]$. Во 2 подгруппе после применения геля с бактериофагами уровень *IL1- β* стал 13,65 [9,7;18,8] ($\Delta-19.5[-43;-7,4]$, $p<0,001$); а после завершения курса лечения $-5[3,1;8,9]$ ($\Delta-4,2[-7,8;-1,8]$, $p<0,001$).

До проведенного лечения уровень *IL6* в 1 группе был 16,54 [14,24; 30,17], а во 2 группе 21,24 [16,12; 43,13], $p=0,161$. После проведенного комплекса лечебных мероприятий *IL6* в 1 группе стал 12,98 [9,8; 21,8] ($\Delta-5,1[-10,4;-3,5]$); во 2 группе после применения «Фагодент» - 11,23 [7,43;17,2] ($\Delta-10.1[-26;-7,1]$, $p<0,001$); а после применения пробиотика 5,3 [2,76;7,43], ($\Delta-5,2 [-8.4;-4,1]$, $p<0,001$). Определение содержания *TNF- α* в смывах пародонтального кармана показало, что до лечения *TNF- α* в 1 группе был 16,8 [13,61; 26,16], а во 2 группе 19,59 [13,49; 31,16], $p=0,643$. После лечения в 1 группе количество *TNF- α* уменьшилось - 9,23 [7,71; 12,7] ($\Delta-6,6[-9,9;-5,0]$, $p=0,099$), а во 2 группе после применения бактериофага - 7,94 [6,72; 9,79] ($\Delta-10.2[-23,1;-5]$, $p<0,001$); по завершении курса лечения - 5,58 [2,68; 7,11] ($\Delta-2.7[-4,9;-1,5]$, $p<0,001$). Анализ содержания провоспалительных цитокинов *IL1- β* , *IL6* и *TNF- α* представлен на рисунке 14, а в подгруппах по степени тяжести хронического генерализованного пародонтита представлен в таблице 38.

Содержание растворимой формы *CD14 (sCD14)* в отделяемом ПК первой подгруппы было 19,15[17,2;22,3] мкг/мл и 20,3[17,6;23,2] мкг/мл во 2 подгруппе до проводимого лечения ($p=0,552$) (таблица 38). После проведенного лечения получены результаты: в 1 подгруппе 13,5[12,1;14,7] ($\Delta-6.2[-9,3;-2,8]$), во 2 подгруппе после применения бактериофага - 12,4[9,5;14,9] ($\Delta-7,6[-9,9;-5,4]$, $p=0,135$) и 9,65[7,8;12,5] ($\Delta-2[-2,7;-1,3]$, $p<0,001$) после пробиотического препарата «Бактоблис» (рисунок 14).

Таблица 38 - Результаты уровней медиаторов воспаления в подгруппах по степени тяжести после лечения хронического генерализованного пародонтита Me[Q1;Q3]

Медиаторы воспаления		Подгруппа 1		Подгруппа 2				p-уровень	
		Легкая	Средняя	Фагоцит		p-уровень	SSk12		
				Легкая	Средняя		Легкая		Средняя
IL1-β	Me [Q1;Q3]	12,67 [10,54;25,09]	14,11 [9,8;37,8]	10,4 [7,8;13,7]	11,88 [10,4;13,11]	p*=0,080 p**=0,320	5 [3,25;7,12]	7,12 [2,81;13,6]	p*<0,001 p**=0,020
	Δ	-5,4 [-14,5;-2,9]	-23,7 [-41,7;-4,7]	-12,7 [-31,5;-6,9]	-54,3 [-95,3;-30,1]	p _{Δ1} =0,002 p _{Δ2} =0,028	-4,34 [-7,5;-2,2]	-2,8 [-7,9;-1,4]	p _{Δ3} <0,001 p _{Δ4} =0,020
IL6	Me [Q1;Q3]	11,12 [8,65;15,04]	28,09 [25,87;34,06]	9,3 [6,17;11,34]	16,39 [14,09;21,12]	p*=0,041 p**=0,001	3,84 [1,99;6,32]	9,54 [7,43;14,87]	p*<0,001 p**<0,001
	Δ	-4,28 [-6,2;-3,2]	-11,9 [-16,1;-10,5]	-7,0[-11;-0,7]	-40 [-48;-36]	p _{Δ1} <0,001 p _{Δ2} <0,001	-4,7[-7,6;-4]	-8,3 [-11,1;-5,3]	p _{Δ3} <0,001 p _{Δ4} <0,001
TNF-α	Me [Q1;Q3]	8,61 [7,7;11,8]	17,16 [11,13;21,4]	7,8 [6,62;8,92]	9,43 [7,1;10,54]	p*=0,034 p**<0,001	2,13 [0,14;3,16]	2,11 [0,43;6]	p*<0,001 p**<0,001
	Δ	-6 [-8,1;-5]	-10,6 [-22,9;-8]	-7,12 [-12,8;-3,9]	-28,7 [-30,4;-24,5]	p _{Δ1} =0,515 p _{Δ2} =0,001	-2,8 [-4,9;-1,6]	-2,5 [-4,3;-1,4]	p _{Δ3} =0,001 p _{Δ4} =0,001
sCD14	Me [Q1;Q3]	13,5 [12,2;15]	13,8 [11,7;14,7]	12,3[9,5;14,1]	12,5 [9,4;15,3]	p*=0,053 p**=0,525	9,7 [7,8;12,5]	8,9[7,6;13,2]	p*<0,001 p**=0,098
	Δ	-5,7[-8,0;-1,9]	-9,7[-13,3;-8,8]	-7[-8,2;-5,1]	-10,9[-14,7;-7,9]	p _{Δ1} =0,049 p _{Δ2} =0,726	-2[-2,7;-1,3]	-1,8[-2,2;-1,4]	p _{Δ3} <0,001 p _{Δ4} =0,152

Примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни, Δ-разница между показателями до и после лечения, p*-сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p**-сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения выбранными препаратами; p_{Δ1}-сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 с легкой степенью ХГП после применения геля с бактериофагами; p_{Δ2}-сравнение разницы показателей с легкой степенью ХГП после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения; p_{Δ3}-сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 с средней степенью ХГП после применения геля с бактериофагами; p_{Δ4}-сравнение разницы показателей с средней степенью ХГП после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения.

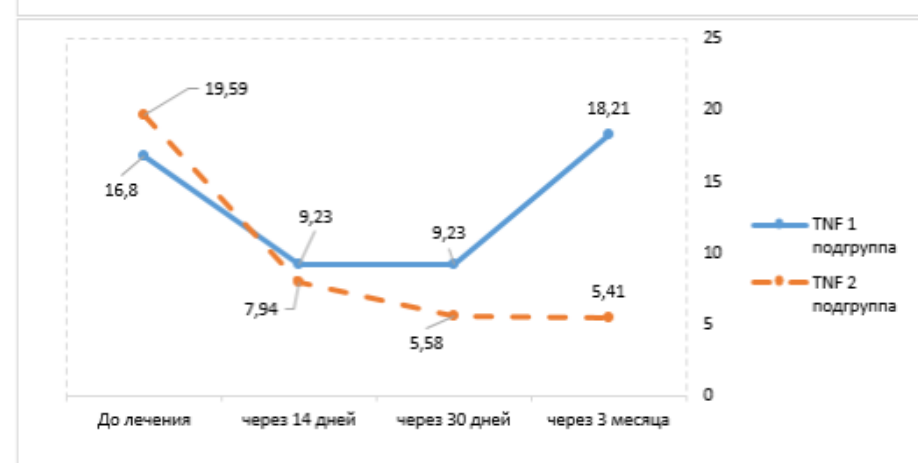
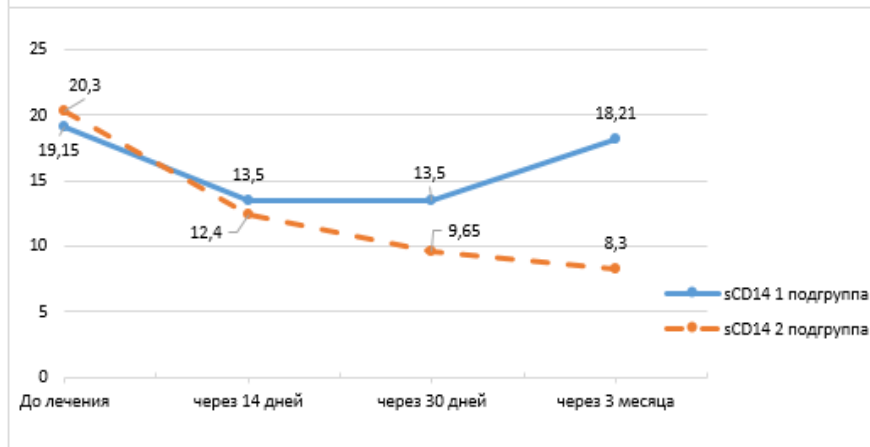
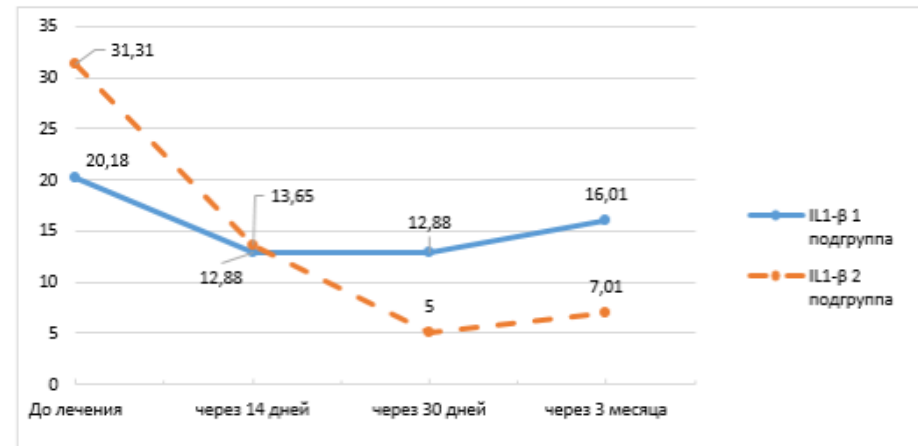
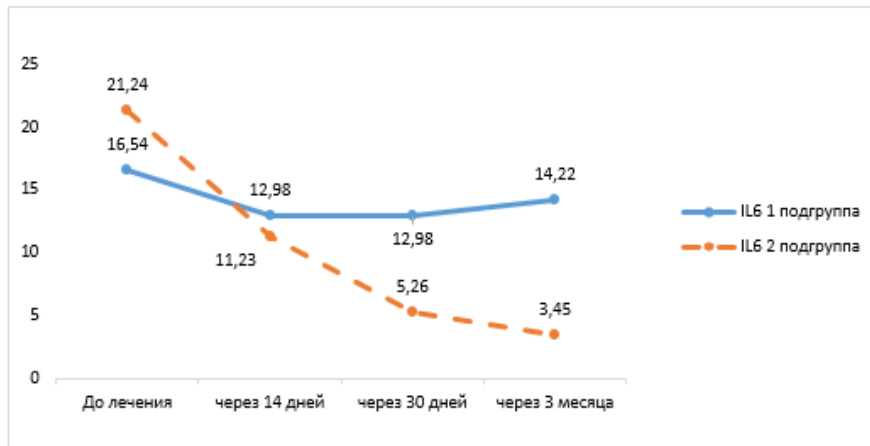


Рисунок 14. Результаты уровней медиаторов воспаления в группах на этапах лечения хронического генерализованного пародонтита

Для определения точек приложения содержания растворимого sCD14 и выявленных пародонтопатогенных бактерий был проведен корреляционный анализ, который выявил прямо пропорциональные взаимосвязи средней силы в отношении *P.gingivalis* и *Pr.intermedia*, а также ассоциаций *P.gingivalis* + *Pr.intermedia* + *T.forsythia* и *Agg.actinomycetemcomitans* + *P.gingivalis* + *T.forsythia* (таблица 39).

Таблица 39 - Корреляционный анализ уровней маркера sCD14 и выделенных пародонтопатогенов

Пародонтопатогены	sCD14	
<i>Agg.actinomycetemcomitans</i>	r=0,372	p<0,001
<i>P.gingivalis</i>	r=0,565	p<0,001
<i>Pr.intermedia</i>	r=0,424	p<0,001
<i>T.forsythia</i>	r=0,338	p<0,001
<i>Tr.denticola</i>	r=0,353	p<0,001
<i>C.albicans</i>	r=0,387	p<0,001
Ассоциации пародонтопатогенов	sCD14	
<i>P.gingivalis</i> + <i>Pr.intermedia</i> + <i>T.forsythia</i>	r=0,393	p<0,001
<i>P.gingivalis</i> + <i>T.forsythia</i>	r=0,153	p=0,050
<i>P.gingivalis</i> + <i>Pr.intermedia</i>	r=0,293	p=0,0001
<i>Agg.actinomycetemcomitans</i> + <i>P.gingivalis</i> + <i>T.forsythia</i>	r=0,467	p<0,001

Через 3 месяца после завершения лечения результаты иммуноферментного анализа позволили оценить уровни изучаемых медиаторов воспаления. Так, содержание *IL1-β* в 1 подгруппе было 16,01[12,56;27,34], а во 2 подгруппе 7,01[5,7;9,3]; *IL6* был 14,22[11,35;21,02] и 3,45[2,4;6,3]; *TNF-α* 14,59[11,72;18] и

5,41[3,12;7,9], *sCD14* 18,21[16,27;23,39] и 8,3[6,71;9,1], соответственно исследуемым группам.

Анализ содержания растворимых молекул межклеточной адгезии до проводимого лечения показал высокие уровни растворимых форм показателей суперсемейства иммуноглобулинов *sICAM-1* и *sVCAM* в отделяемом пародонтального кармана в обеих подгруппах: 83,95 [76,4;89,3] в 1 подгруппе и 76,4 [68,2;85,6] во 2 подгруппе, $p=0,054$; 70,3 [52,4;83,6] и 73,55 [60,3;83,4] соответственно, $p=0,412$. Уровни экспрессии *sL*- и *sE*-селектинов также не различались в подгруппах до лечения: 11,4 [9,7;14,3] в 1 подгруппе и 12,4 [8,9;14,2] во 2 подгруппе, $p=0,503$; 6,9[5,4;7,8] и 6,85 [5,4;7,8] соответственно, $p=0,528$.

На фоне проводимого лечения было зафиксировано значимое снижение сывороточных концентраций *sICAM-1*, *sVCAM*, *sE*-и *sL*-селектина в обеих подгруппах. Уровень *sICAM-1* в 1 подгруппе составил -34,15[28,5;39,7] (Δ -49,1[-54,6;-35,1]), во 2 подгруппе - 25,3 [16,3;30,2] (Δ -53,8[-62;-40,1], $p=0,073$) и - 9,5 [6,5;12,5] (Δ -16,9[-21,3;-8,3], $p<0,001$) после пробиотической коррекции. Содержание *sVCAM* в 1 подгруппе составил 24,45 [15,6;31,8] (Δ -42,95[-55,3;-32,9]), во 2 подгруппе 15,3[12,5;19,3] (Δ -54,7[-68,1;-44], $p<0,001$) после применения бактериофага, а после применения пробиотика 3,9[2,1;6,4] (Δ -12,3[-15,4;-7,9], $p<0,001$). Концентрация *sE*-и *sL*-селектина снизилась в 1 подгруппе: 4,8[3,4;6] (Δ -1,05[-2,9;-0,6]) и 7,1[6,3;7,8] (Δ -5,2[-7,3;-3,1]), во 2 подгруппе 2,9[2,4;3,2] (Δ -3,8[-4,7;-2,4], $p<0,001$) и 3,6[2,7;4,7] (Δ -8,3[-10,9;-4,8], $p<0,001$) после терапии бактериофагом, а после пробиотика 1,6 [1,3;1,9] (Δ -1,1[-1,7;-0,8], $p<0,001$) и 2,55[1,6;3,4] (Δ -1[-1,5;-0,4], $p<0,001$). Результаты представлены в таблице 40.

Анализ уровней растворимых форм молекул межклеточной адгезии в зависимости от степени тяжести ХГП представлены в таблицах 41 и 42.

Таблица 40 - Анализ содержания растворимых молекул адгезии в подгруппах с ХГП на этапах лечения Me[Q1;Q3], нг/мл

Молекулы адгезии	До лечения		р-уровень	Усл. обозначение	После лечения			р-уровень
	Подгруппа 1 (Традиционное лечение)	Подгруппа 2 (Предложенный способ)			Подгруппа 1 через 14 дней	Подгруппа 2 (Предложенный способ)		
						Фагодент Через 14 дней	Бактоблис Через 30 дней	
sICAM-1	83,95 [76,4;89,3]	76,4 [68,2;85,6]	p=0,054	Me [Q1;Q3]	34,15 [28,5;39,7]	25,3 [16,3;30,2]	9,5 [6,5;12,5]	p1<0,001 p2<0,001
				Δ	-49.1 [-54.6;-35.1]	-53.8 [-62;-40.1]	-16.9[-21.3;-8.3]	p _{Δ1} =0,073 p _{Δ2} <0,001
sVCAM	70,3 [52,4;83,6]	73,55 [60,3;83,4]	p=0,412	Me [Q1;Q3]	24,45 [15,6;31,8]	15,3 [12,5;19,3]	3,9 [2,1;6,4]	p1<0,001 p2<0,001
				Δ	-42.95 [-55.3;-32.9]	-54.7 [-68.1;-44]	-12.3[-15.4;-7.9]	p _{Δ1} <0,001 p _{Δ2} <0,001
sE-селектин	6,9 [5,4;7,8]	6,85 [5,4;7,8]	p=0,528	Me [Q1;Q3]	4,8 [3,4;6]	2,9 [2,4;3,2]	1,6 [1,3;1,9]	p1<0,001 p2<0,001
				Δ	-1.1 [-2.9;-0.6]	-3.85 [-4.7;-2.4]	-1.05[-1.7;-0.8]	p _{Δ1} <0,001 p _{Δ2} <0,001
sL-селектин	11,4 [9,7;14,3]	12,4 [8,9;14,2]	p=0,503	Me [Q1;Q3]	7,1 [6,3;7,8]	3,6 [2,7;4,7]	2,55 [1,6;3,4]	p1<0,001 p2<0,001
				Δ	-5.2 [-7.3;-3.1]	-8.3 [-10.9;-4.8]	-1[-1.5;-0.4]	p _{Δ1} <0,001 p _{Δ2} <0,001

Примечание: р-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни, Δ-разница между показателями до и после лечения, p1-2-сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p1-3-сравнение показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения выбранными препаратами; p_{Δ1}-сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 после применения геля с бактериофагами; p_{Δ2}-сравнение разницы показателей после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения.

Таблица 41 - Уровень растворимых молекул межклеточной адгезии до лечения в подгруппах по степени тяжести хронического генерализованного пародонтита, Me[Q1;Q3], нг/мл

Молекулы адгезии	До лечения					
	Подгруппа 1		p-уровень	Подгруппа 2		p-уровень
	Легкая степень тяжести	Средняя степень тяжести		Легкая степень тяжести	Средняя степень тяжести	
sICAM-1	82,6 [76,4;89,3]	87,1 [62,4;91,3]	p=0,082	75,3 [68,2;86,5]	78,3 [69,6;84,3]	p=0,340
sVCAM	63,5 [49,2;76,2]	87,2 [78;89,2]	p=0,074	73,1 [58,2;83,1]	76,4 [65,4;89]	p=0,192
sE-селектин	6,8 [4,9;7,6]	7,8 [6,9;8,2]	p=0,646	6,9 [5,6;7,8]	6,4 [4,7;7,3]	p=0,069
sL-селектин	10,7 [9,6;14,3]	13,5 [12,6;14,6]	p=0,742	11,6 [8,9;13,7]	13,2 [8,5;14,7]	p=0,524

Таблица 42 - Уровень молекул межклеточной адгезии после лечения в подгруппах по степени тяжести хронического генерализованного пародонтита, Me[Q1;Q3], нг/мл

Молекулы адгезии		После лечения							
		Подгруппа 1 (традиционное лечение)		Подгруппа 2 (Предложенный способ)					
				Фагодент (14 дней)		p-уровень	SSK12(30 дней)		p-уровень
		Легкая	Средняя	Легкая	Средняя		Легкая	Средняя	
sICAM-1	Me [Q1;Q3]	34,5 [29,5;39,7]	32,1 [27,9;41,5]	25,1 [16,3;31,2]	26,3 [16,5;28,5]	p1<0,001 p2=0,026	9,5 [6,5;12,5]	9,5 [6,5;12,4]	p3<0,001 p4<0,001
	Δ	-48.7 [-54.1;-35.1]	-49.8 [-59.5;-31.1]	-53.7 [-62;-39.9]	-54 [-58;-41.9]	p _{Δ1} =0.107 p _{Δ2} =0.504	-16.6 [-20.5;-8.9]	-18.1 [-22.1;-7.5]	p _{Δ3} <0.001 p _{Δ4} =0.003
sVCAM	Me [Q1;Q3]	23,1 [15,2;28,4]	35,2 [34,1;45]	14,2 [11,5;17,4]	19,7 [18,5;27,4]	p1<0,001 p2<0,001	3,7 [2,1;6,3]	4,2 [2,1;6,9]	p3<0,001 p4<0,001
	Δ	-37.4 [-56.9;-31]	-48.4 [-55;-38.6]	-54.7 [-69.9;-44.7]	-57.5 [-61.9;-44]	p _{Δ1} =0.001 p _{Δ2} =0.192	-10.1 [-13.5;-7.1]	-16.6 [-25.2;-12.7]	p _{Δ3} <0.001 p _{Δ4} <0.001
sE-селектин	Me [Q1;Q3]	4,9 [3,4;6]	4,1 [3,1;6,1]	2,9 [2,3;3,2]	2,6 [2,5;3,3]	p1<0,001 p2=0,035	1,6 [1,3;2]	1,6 [1,5;1,8]	p3<0,001 p4<0,001
	Δ	-0.8 [-2.9;-0.5]	-2[-5.8;-0.7]	-4.2[-4.9;-2.5]	-3.2[-4.3;-2.3]	p _{Δ1} <0.001 p _{Δ2} =0.357	-1.1 [-1.6;-0.8]	-1[-1.9;-0.8]	p _{Δ3} <0.001 p _{Δ4} =0.055
sL-селектин	Me [Q1;Q3]	7,1 [6,3;7,8]	7,4 [5,9;7,8]	3,6 [2,7;4,7]	3,6 [2,6;5,1]	p1<0,001 p2<0,001	2,7 [1,6;3,4]	2,4 [1,5;3,1]	p3<0,001 p4<0,001
	Δ	-4.3[-8;-2.6]	-5.9 [-7.3;-5.1]	-8.2 [-10.4;-4.8]	-9.7 [-11.5;-5.8]	p _{Δ1} =0.011 p _{Δ2} =0.133	-0.79 [-1.5;-0.4]	-1.2[-1.3;-0.9]	p _{Δ3} <0.001 p _{Δ4} =0.033

примечание: p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна-Уитни, Δ-разница между показателями до и после лечения, p1–сравнение показателей после лечения в подгруппах с легкой степенью ХГП после применения геля с бактериофагами; p2–соответственной со средней степенью ХГП; p_{Δ1}–сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 с легкой степенью ХГП после применения геля с бактериофагами; p_{Δ2}–сравнение разницы показателей с легкой степенью ХГП после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения; p_{Δ3}–сравнение разницы показателей в подгруппе 1 и подгруппе 2 с средней степенью ХГП после применения геля с бактериофагами; p_{Δ4}–сравнение разницы показателей с средней степенью ХГП после лечения в подгруппе 1 и подгруппе 2 по окончании курса лечения.

Для определения возможной патогенетической взаимосвязи молекул межклеточной адгезии суперсемейства иммуноглобулинов был проведён корреляционный анализ, в ходе которого были выявлены положительные корреляции слабой и средней силы (таблица 43).

Таблица 43. Корреляционный анализ содержания молекул адгезии и пародонтопатогенов после проведенного лечения во 2 подгруппе

Пародонтопатогены	sVCAM	sICAM-1	sE-селектин	sL-селектин
<i>Agg. actinomycetemcomitans</i>	rs=0,447 p<0,001	rs=0,414 p<0,001	rs=0,418 p<0,001	rs=0,459 p<0,001
<i>P. gingivalis</i>	rs=0,581 p<0,001	rs=0,578 p<0,001	rs=0,589 p<0,001	rs=0,474 p<0,001
<i>T. forsythia</i>	rs=-0,024 p=0,811	rs=-0,057 p=0,569	rs=0,057 p=0,568	rs=0,117 p=0,244
<i>Tr. denticola</i>	rs=0,480 p<0,001	rs=0,449 p<0,001	rs=0,380 p=0,0001	rs=0,520 p<0,001
<i>Pr. intermedia</i>	rs=0,531 p<0,001	rs=0,535 p<0,001	rs=0,454 p<0,001	rs=0,494 p<0,001
<i>C. albicans</i>	rs=0,521 p<0,001	rs=0,515 p<0,001	rs=0,502 p<0,001	rs=0,560 p<0,001

После завершения лечения (через 3 месяца) содержание молекул суперсемейства иммуноглобулинов было: sVCAM в 1 подгруппе было 45,7[32,6;56,4], а во 2 подгруппе 4,11[2,8;5,3]; sICAM-1 - 64,2[49,1;78,2] и 8,4[6,3;9,8]; в семействе селектинов - sE-селектин 5,7[4,3;7,1] и 1,4[1,2;2,1], sL-селектин 8,9[7,4;9,6] и 2,5[1,3;3,4], соответственно в исследуемых группах.

Изучение морфологической структуры клеток буккального эпителия до лечения в подгруппах не выявило статистической значимой разницы. Индекс дифференцировки клеток был неудовлетворительным: 432[413;452] в 1 подгруппе и 429[400;456] во 2 подгруппе (p=0,603). После лечения в 1 подгруппе средние значения индекса составили 438[429;456] ($\Delta 7[1;16]$), во 2 подгруппе 448[412;458] ($\Delta 13[0;20]$, p=0,352) после применения Фагодент (14 дней) и через 30 дней - 452 [421;461] ($\Delta 7[2;14]$, p=0,007).

Показатель естественной колонизации эпителиоцитов (РАМ) до лечения в 1 подгруппе был 18,4[4;42] и 35[12;52] во 2 подгруппе (p=0,097). После проведенного традиционного лечения РАМ стал 28[8,1;54] ($\Delta 4[1;11]$), после

бактериофага - 37[26;52] ($\Delta 2,7[0;7]$, $p=0,330$) и 37[31;50] ($\Delta 2[0;7]$, $p=0,726$) после пробиотика.

Индекс кератинизации до лечения также был неудовлетворительными в обеих подгруппах: 8[3;14] в 1 подгруппе и 8[2;12], $p=0,435$. После лечения в 1 подгруппе ИК составил 14,5[12;16] ($\Delta 3,5[0;8]$) и 15[11;17] после бактериофага ($\Delta 6,5[4;9]$, $p=0,033$), 16[15;20] ($\Delta 2[0;3]$, $p<0,001$) после пробиотика.

Площадь ядра до лечения в 1 подгруппе - 10,11 [9,04;10,95] и 9,84 [8,98;10,58], $p=0,317$. В результате проведенного лечения уменьшилась и составила 9,58[8,83;10,17] ($\Delta -0,46[-0,7;-0,2]$), в 1 подгруппе, 9,35 [8,21;10,25] ($\Delta -0,4[-0,7;-0,1]$, $p=0,946$) через 14 дней после применения бактериофага и 8,93 [7,98;10,01] на 30 день после пробиотической коррекции ($\Delta -0,2[-0,3;-0,1]$, $p=0,005$). Площадь цитоплазмы до вмешательства в 1 подгруппе была 47,89 [45,65;51,92] и 48,57[45,92;51,24] во 2 ($p=0,718$). Результатом лечения стало увеличение площади цитоплазмы. Так, в 1 подгруппе $S_{\text{цитоплазмы}}$ составила 46,73[44,27;49,14] ($\Delta -1,6[-3,8;0,45]$), а во 2 - 48,27 [45,77;52,12] ($\Delta 0,21[-2,8;2,6]$), через 14 дней и 49,53 [47,51;54,36] ($\Delta 2,84[0,8;3,9]$), через 30 дней, при $p=0,115$ и $p<0,001$ соответственно. Ядерно-цитоплазматическое соотношение до лечения было 0,205 [0,193;0,221] в 1 подгруппе и 0,196 [0,182;0,220] во 2 подгруппе ($p=0,173$). Результаты сдвигов ядерно-цитоплазматического соотношения после проведенного лечения представлены на рисунке 15.

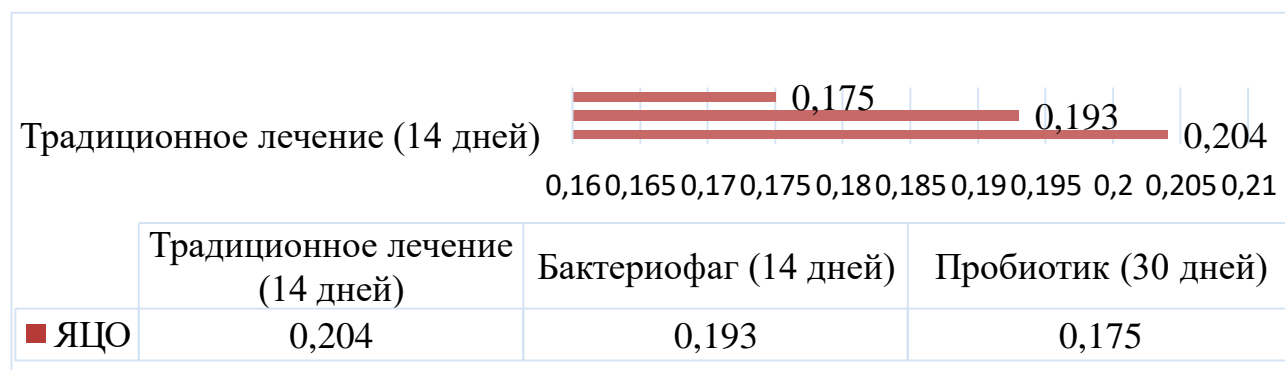


Рисунок 15. Ядерно-цитоплазматическое соотношение после проведенного лечения в изучаемых подгруппах, μm^2

Встречаемость клеток с цитоморфологическими нарушениями до лечения в подгруппах статистически не отличалась: количество микроядер в подгруппах было следующим - 5,5[2;9] в 1 подгруппе и 9[3;9] во второй ($p=0,070$). После проведенного лечения по протоколу количество снизилось и составило: 4,5[2;7] ($\Delta-1,02[-3,4;-0,2]$), а после 14 дня применения бактериофага - 6[3;8] ($\Delta-2,5[-5,1;-1,3]$, $p=0,100$), а на 30 день - 2[0;3] ($\Delta-4,3[-6;-2,1]$, $p=0,001$). Количество клеток с протрузией до лечения в 1 подгруппе было 1[0;5], а во 2 - 0[0;5], $p=0,298$. Через 14 дней в 1 подгруппе количество снизилось - 0,5[0;2] ($\Delta-0,5[-2,7;-0,1]$), а во 2 подгруппе 0[0;2] ($\Delta-0,5[-2,9;0]$, $p=0,357$), через 30 дней результат был 0[0;1] ($\Delta 0[-1;0]$), $p=0,004$. Количество двуядерных клеток до лечения в первой подгруппе было 3[0;11], во второй подгруппе 7[0;11], $p=0,750$. Лечение позволило снизить встречаемость данного показателя. В 1 подгруппе были получены следующие результаты: 2[0;6] ($\Delta-1,1[-5;0]$), во 2 подгруппе - 3[0;6] ($\Delta-4[-6;-1]$, $p=0,011$) на 1 этапе лечения, и 0,5[0;3] по окончании курса ($\Delta-2,7[-3;0]$, $p=0,049$).

Таким образом, проведение молекулярно-генетических исследований у больных хроническим генерализованным пародонтитом позволяет оценить бактерицидный эффект проводимого лечения. Исследование ДНК микроорганизмов, колонизирующих экосистему при пародонтите (*A. Actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis*, *T.denticola*, *P.intermedia*), показало, что у больных ХГП включение в состав терапии наряду с профессиональной гигиеной рта бактериофага и пробиотика, оказывает значимое положительное влияние на состояние микробиоты полости рта и исключает применение антибактериальных препаратов системного действия, и позволяет добиться продолжительной ремиссии путем достижения эффекта колонизационной резистентности.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Особенности природных экосистем Арктического региона и уникальность многофакторного влияния на организм человека способствуют снижению специфических механизмов иммунного реагирования и резервных возможностей организма и может изменять состав, функцию и метаболическую активность микробиоты полости рта [22]. Хронический пародонтит является мультифакториальным стоматологическим заболеванием, в основе которого лежат комплексные взаимодействия между сдвигами иммунного реагирования и изменениями биопленки, приводящие к персистирующему воспалительному процессу и потере зубодесневого прикрепления. Хронический пародонтит является одним из наиболее распространенных заболеваний полости рта среди взрослого населения Арктического региона (98%) [22,35,37].

В ходе данного исследования установлено, что у пациентов с диагнозом хронический пародонтит *T. forsythia* регистрировалась в 99 % ($p < 0,001$). Факторы вирулентности анаэробного грамотрицательного патогена в наименьшей степени изучены, тем не менее резистентность к *T. forsythia* обоснована способностью к продукции глико- и протеолитических ферментов, чья активность в поддесневых образцах связана с клиническими признаками ХГП. Вероятно, именно этим ферментам принадлежит основная роль в связывании *T. forsythia* с эритроцитами, полиморфноядерными лейкоцитами и фибробластами [43,83].

Встречаемость *P. gingivalis* составила 91 % ($p < 0,001$), что в 6,36 раз превышает частоту определения бактерии в группе контроля. *P. gingivalis* рассматривают как ключевой антиген, который стимулирует иммунокомпетентные клетки и содействует развитию оксидативного стресса. *P. gingivalis* располагает множеством факторов патогенности, способствующих адгезии и росту бактерий в тканях пародонта, таких как фимбрии, гингипаины и липополисахариды. Адгезию к специфическим рецепторам, обеспечивают фимбрии. Они также стимулируют проникновение патогенов, синергируя с β 1-интегринами клеток эпителия и трансформируя их цитоскелет, регулируют

образование цитокинов. Гингипаины обеспечивают устойчивость к макрофагальной активности и поражают сывороточные опсоины, препятствуя формированию абсцессов [19,20,43,83,112].

T. denticola обнаружена у 94 % ($p = 0,054$) пациентов, что в 3,8 раза выше, чем в контрольной группе. В наружной мембране бактерии есть существенные отличия от грамотрицательных пародонтопатогенных бактерий, так текучесть мембраны напоминает мембрану грамположительных бактерий, содержащей фосфолипиды. В свою очередь трепонемальные фосфолипиды инициируют продукцию медиаторов воспаления (TNF- α и IL-1) макрофагами [19,20,43,83].

Протеолитические ферменты *T. denticola* играют роль в трансформации про-IL-1 β в биоактивную форму, стимулируя иммунный ответ. Кроме того, дентилизин инициирует апоптоз эпителиальных клеток. Резистентность к антибактериальным препаратам *T. denticola* обусловлена наличием белка Msp, олигомерного поверхностного протеина, цитотоксичного в клетках эпителия. А также обладает способностью нарушать цитоскелет и ингибировать движение нейтрофилов. К другим факторам патогенности относят протеолитические ферменты (хемотрипсин и дентилизин) [19,20,43,83].

P. intermedia обнаружена у 90 % ($p < 0,001$) пациентов с хроническим пародонтитом, что в 14 раз превышает обнаружение бактерии в группе с интактным пародонтом. Являясь анаэробной грамотрицательной бактерией *P. intermedia* обладает факторами вирулентности, такими как ЛПС и мембранно-ассоциированные протеазы. Последние, участвуют в дезаминировании CD14, моделируя вирулентность ЛПС. Кроме того, гликопротеин *P. intermedia* стимулирует экспрессию ICAM-1 на фибробластах десны. Штаммы *P. intermedia* резистентны к комплементарной системе человека за счет продукции гингипаинов и интерпаина А, которая в десневой жидкости присутствует до 70 % [19,20,43,83].

A. actinomycetemcomitans встречались с наименьшей частотой среди других пародонтопатогенов 1 порядка – 51 % ($p < 0,001$), в группе контроля данный представитель идентифицирован лишь в 3,18% случаев, что в 16 раз меньше. Вероятно, это объясняется тем, что *A. actinomycetemcomitans* чаще регистрируется

при агрессивных формах хронического пародонтита. Фактором вирулентности *A. actinomycetecomitans* является лейкотоксин, при взаимодействии с рецепторами интегрина CD11a/CD18 индуцируют лизис моноцитов и полиморфноядерных лейкоцитов и человека. Кроме того, лейкотоксин участвует в секреции активной формы IL-1 β и могут стимулировать апоптоз иммунных клеток десневой жидкости. Результатом клеточного лизиса являются ферменты, способствующие разрушению ткани, а также антимикробные пептиды (АМП), обладающие способностью сдерживать микробный рост и привлекать другие иммунокомпетентные клетки в воспалительный очаг - дефензины. ЛПС *A. actinomycetecomitans* индуцирует секрецию медиаторов воспаления (IL-1 β , TNF- α и IL-6) фибробластами десны, которые в свою очередь поддерживают воспалительную реакцию и ускоряют костно-резорбирующую активность остеокластов, приводя к разрушению кости альвеолы [19,20,43,83].

В формировании биопленки при хроническом пародонтите принимают участие не только бактерии, но и грибы, особенно *C.albicans*, относящаяся к пародонтопатогенам 2 порядка. Частота встречаемости дрожжеподобных грибов в нашем исследовании в группе с хроническим пародонтитом *C.albicans* составляла в 47% случаев ($p < 0,001$), а в группе контроля только в 4,76%, что в 9,8 раз ниже. Однако, количественное содержание в подгруппах было практически равно 0 (lg КОЕ/мл), что затрудняло оценку патогенетического влияния *C.albicans* в развитии пародонтита. Несмотря на это, факторы вирулентности данного гриба весьма обширны (поверхностные адгезивы, полисахариды клеточной стенки, гидролитические ферменты и др.). Известно, что *C.albicans* может образовывать межвидовые взаимоотношения с различными бактериями, что способствует отклонению от иммунной системы, повышая свойства микробной биопленки. В тоже время они могут конкурировать с бактериями за сайты адгезии. Исследования коинфекции с *P. gingivalis* противоречивы. Не исключается антагонистическое действие, с менее выраженными клиническими проявлениями пародонтита, с другой стороны коагрегация *P.gingivalis* и *C.albicans* приводила к образованию более инвазивного грибкового фенотипа. Помимо этого, *C.albicans* может тормозить процесс иммунного реагирования [84].

В ходе исследований выявленные ассоциации пародонтопатогенов в основной группе говорят о стойкой коагрегации и взаимодействии бактерий между собой. Так, *P.gingivalis* в ассоциации с *T. forsythia* была обнаружена в 50% случаев. Считается, что *T. forsythia* предшествует появлению *P.gingivalis* и чаще выделяется уже при гингивите. Ассоциация всех трех пародонтопатогенов 1 порядка была выделена в 49% случаев. Хроническая персистенция ассоциаций перечисленных пародонтопатогенов значительно повышает риск возникновения ВЗП, при этом снижая успешность терапевтического лечения, что классифицирует их как пародонтопатогены 1 порядка (красного комплекса по Socransky) [84,116]. Результаты статистического анализа (таблица 10) показали прямые корреляции, свидетельствующие на то, что при прогрессировании деструкции кости чаще регистрируются облигатные анаэробы (*P.gingivalis* и *T.forsythia*). Что подтверждает данные Chaves с соавт. (2000) о связи *P.gingivalis* и *T.forsythia* с прогрессирующей резорбцией кости [96,125]. Начальная деструкция костной ткани ассоциирована с *A. actinomycetemcomitans*. Возможно, *A. actinomycetemcomitans* принимает активное участие на начальных этапах развития хронического пародонтита, а *T. forsythia* и *P. gingivalis* обеспечивают последующее прогрессирование.

Липополисахарид (ЛПС) является компонентом плазматической мембраны Грам(-) бактерий, обеспечивая целостность ее структуры и биологическую активность. ЛПС является одним из важнейших эндотоксинов и активирует рецепторы распознавания паттернов, например, толл-подобные рецепторы (TLR) на поверхности иммунокомпетентных клеток, что в свою очередь оказывает непосредственное влияние на механизм иммунного реагирования, нарушая гомеостаз макроорганизма [7,19,43]. При взаимодействии ЛПС с TLR-4, происходит выброс в кровь растворимого мембранного белка sCD14, являющегося корецептором комплекса CD14-TLR4-MD2 [38,126]. Данное утверждение подтверждено в нашем исследовании, так, концентрации sCD14 у пациентов с хроническим пародонтитом в среднем в 10 раз превышали значения в группе контроля. Также уровень sCD14 в 1,27 раз повышался при прогрессировании хронического пародонтита (таблица 13). Корреляционный

анализ маркера sCD14 с изучаемыми пародонтопатогенами выявил прямую корреляцию средней силы с *T.forsythia* и *P.gingivalis* ($p \leq 0,001$) (таблица 14). Ослабление защитной функции слизистой оболочки, в следствие абсорбции ЛПС и других антигенов, способствует развитию воспаления и эндотоксемии. Высвобождающийся ЛПС Грам (-) бактерий объединяется с липополисахарид-связывающим белком (ЛСБ), повышая его связь с CD14. Образованный комплекс (ЛПС-ЛСБ-CD14) инициирует реакцию воспаления, активируя провоспалительные цитокины и макрофаги, после чего CD14 слущивается трансформируясь в растворимую форму (sCD14), обеспечивая системное воспаление [24].

Белки острой фазы выполняют функции тканевого восстановления, модулируют коагуляцию и непосредственно участвуют в фагоцитозе, активация которого сопровождается расщеплением sCD14[24,109].

В группе пациентов с ХГП выявлены прямые корреляционные взаимосвязи высокого уровня белка sCD14 (> 17 нг/мл) с пародонтопатогенами 1 и 2 порядка, а также их ассоциаций. Встречаемость *P. gingivalis* была на 19,1% выше, *T. forsythia* - 16,5%, *A. actinomycetemcomitans* - 26,06%, чем в подгруппе уровнем sCD14 < 17 нг/мл (рисунок 4). Анализ взаимосвязи уровня растворимого корцептора и коагрегации пародонтопатогенов показал, что в случае выявления ассоциации *P. gingivalis* и *T. forsythia*, количество sCD14 регистрировалось в 10 раз выше (таблица 15).

sCD14 выступает в роли маркера микробной транслокации и является посредником переноса липополисахарида на липопротеины, с дальнейшей нейтрализацией ЛПС. Возможно, sCD14 выступает в роли первостепенного фактора, сдерживающего развитие воспаления и деструкции. Так, высокий уровень белка, обнаруженный в нашем исследовании, может препятствовать липополисахарид-стимулированную активацию моноцитов, при этом снижая или повышая клеточный ответ на липополисахарид.

Как сказано ранее, цитокины провоспалительного ряда обеспечивают воспаление и стимулируют костно-резорбирующую активность остеокластов, что приводит к деструкции альвеолярной кости. ЛПС грамотрицательных бактерий

способствует высвобождению медиаторов костной резорбции. Так, ЛПС *T. forsythia* стимулирует секрецию медиаторов воспаления: *IL-1* ($r_s=0,622$, $p<0,001$), *TNF- α* ($r_s=0,506$, $p<0,001$) и *IL-6* ($r_s=0,798$, $p<0,001$; таблица 14) в макрофагах человека, при взаимодействии с CD14. В макрофагах, лейкоцитах и фибробластах десен *P. gingivalis* способны активировать каспазу-1, IL-1 β и IL-18[83]. Эпителиальные клетки десны и некоторые иммунные клетки (макрофаги) принимают участие в 2х сигнальных путях. Способствуют экспрессии цитозольного белка криопирин (NLRP3) и предшественника IL-1 β (pro-IL-1 β) на внедрение *P. gingivalis*, а также связываются с пуринорецептором гена P2X7, ион-зависимым каналом, незаменимым в созревании IL-1 β ($r_s=0,514$, $p<0,001$; таблица 14) и конечной секреции. Один из факторов вирулентности *P. gingivalis* – гингипаины, способствуют уклонению бактерии от иммунной системы макроорганизма. Так, гингипаины могут инактивировать некоторые цитокины, иммуноглобулины, белки системы комплимент и sCD14, что в конечном итоге приводит к ослаблению иммунного реагирования в ответ на инвазию патогенов. Тем не менее результаты исследования показали высокий уровень sCD14 ($r_s=0,393$, $p<0,001$; таблица 14), что можно объяснить активностью других факторов агрессии *P. gingivalis*, например, липополисахарид. Одна из ключевых функций sCD14 – распознавание бактериального липополисахарида в составе клеточного комплекса с TLR4 и MD2. Возможно, более существенное значение в реакции иммунной защиты играет именно ЛПС, с чем связана высокая секреция sCD14 [83,126,129,130]. Фактор агрессии *A. actinomycetemcomitans* - лейкотоксин, инициирует каспазу-1, что стимулирует продукцию IL-1 β ($r_s=0,373$, $p<0,001$; таблица 14) в иммунокомпетентных клетках, что находит отражение в тяжести рентгенологических и клинических проявлениях ХГП [83,130].

В исследовании оценивали ключевые провоспалительные цитокины, запускающие каскад деструктивных реакций в тканях пародонта. Концентрации медиаторов воспаления в группе пациентов с хроническим пародонтитом достоверно превышали значения в группе контроля: IL-1 β в 10 раз ($p<0,001$), IL-6 в 10,5 раз ($p<0,001$) и в 10,2 раза *TNF- α* ($p<0,001$). Кроме того, уровень цитокинов повышался по мере прогрессирования хронического пародонтита (таблица 12),

однако не так значительно как в центральных и южных регионах России [51,54,58,79]. Вероятно, влияние экстремальных факторов Арктического региона, в том числе способствуют снижению иммунного реагирования [22,35]. Выявлены прямые средние и сильные корреляции в отношении всех изучаемых индексов и провоспалительного цитокина ИЛ-6, и обратная сильная корреляция с индексом Фукса (таблица 13). А также прямые корреляции слабой силы с ИЛ-1 β и TNF- α .

Уровень ИЛ-6 прямо коррелировал (средней силы) со всеми исследуемыми пародонтопатогенами, за исключением *C.albicans*, в то время как ИЛ-1 β коррелировал с *P.gingivalis*, *T.forsythia* и *T. denticola*, а TNF- α только с *T.forsythia* (таблица 14). Что подтверждает утверждение, что синтез данных цитокинов стимулируется в ответ на бактериальную инвазию [58]. Трепонемальные фосфолипиды *T. denticola* инициируют продукцию медиаторов воспаления (TNF- α и ИЛ-1) макрофагами. Протеолитические ферменты *T. denticola* играют роль в трансформации про-ИЛ-1 β в биоактивную форму, стимулируя иммунный ответ. Лейкотоксин *A. actinomycetecomitans* участвует в секреции активной формы ИЛ-1 β и может стимулировать апоптоз иммунокомпетентных клеток. Результатом лизиса клеток становится выделение ферментов, разрушающих ткани, а также образование дефензинов - пептидов, способных угнетать бактериальное размножение и привлекать другие иммунокомпетентные клетки в воспалительный очаг [19]. ЛПС *A. actinomycetecomitans* индуцирует секрецию медиаторов воспаления (ИЛ-1 β , TNF- α и ИЛ-6) фибробластами десны, которые в свою очередь поддерживают воспалительную реакцию и ускоряют костно-резорбирующую активность остеокластов, приводя к разрушению кости альвеолы. Результаты логистического регрессионного анализа показали увеличение вероятности повышения средних концентраций ИЛ-1 β в 32 раза и в 57,5 раз ИЛ-6, в случае регистрации ассоциации приоритетных пародонтопатогенов (таблица 16).

Буккальный эпителий выполняет ключевую функцию в реакциях неспецифического иммунного реагирования, выступая важным звеном взаимодействия с профессиональными индукторными и эффекторными клетками. Микробная адгезия и действие факторов их вирулентности, приводит к

нарушению функционального статуса буккального эпителия, что запускает образование порочных патогенетических кругов, инициирующих и поддерживающих хронический персистирующий воспалительный процесс [110]. Выявленные в мазках буккального эпителия представители кокковой флоры относят к нормофлоре [83], идентификацию кокков в данном исследовании не проводили. В исследовании зафиксировано увеличение адгезированных микроорганизмами эпителиоцитов в цитограммах, что свидетельствует о повышении риска развития воспалительных заболеваний рта в следствие снижения неспецифической резистентности организма. Выявленные признаки митотической активности *C.albicans*, преобладание клеток с кокками, собранных в микробные конгломераты, адгезированных на поверхностях эпителиоцитов, подтверждают нарушение микробного равновесия при хроническом пародонтите. Таким образом, изменение уровня естественной колонизации эпителиоцитов может свидетельствовать об ослаблении колонизационной резистентности слизистой оболочки рта у пациентов с пародонтитом, что находит отражение в работах исследователей других регионов РФ [26,39].

О дестабилизации адаптационных механизмов свидетельствуют полученные неудовлетворительные результаты индекса РАМ. Повышение адсорбированных микроорганизмов потенцируют воспалительные реакции, снижая неспецифическую резистентность не только в полости рта, но и на системном уровне. Неудовлетворительные результаты также могут свидетельствовать о снижении колонизационной резистентности в отношении условно-патогенных микроорганизмов и дисбиотическом стрессе, что безусловно влияет на развитие хронического пародонтита [53,56].

Проанализировано функциональное состояние эпителиоцитов на основе степени их зрелости. В ходе изучения соскобов буккального эпителия выявлены клетки различных стадии дифференцировки. Эти стадии варьируются от малодифференцированных клеток, находящихся в базальном слое, отвечающих за обновление эпителия, до более дифференцированных клеток расположенных в поверхностных слоях [72,101,102]. Преобладание парабазальных клеток указывало на активность процессов пролиферации и общее омоложение эпителия.

Это свидетельствует о высокой активности процессов регенерации и восстановления буккального эпителия [113].

Анализ результатов индекса кератинизации показал, что в контрольной группе процессы биологического старения клеток буккального эпителия протекают естественным образом. В группе с ВЗП практически полное отсутствие безъядерных клеток (91%, $p=0,064$) указывает на снижение репаративного восстановления клеток эпителия щеки (таблица 18).

Анализ маркеров деструкции ядер эпителиоцитов в исследуемых группах не выявил статистически значимых различий (таблица 19). Однако, несущественное увеличение частоты встречаемости показателей апоптоза в группе с хроническим пародонтитом, в сравнении с группой контроля, указывало на активную гибель поврежденных клеток в ответ на инвазию бактериями [39,110]. Вероятно, слишком низкое количественное выделение клеток с показателями апоптоза не позволило в полной мере проанализировать корреляционные взаимосвязи с приоритетными пародонтопатогенными бактериями. Однако, в отношении кариолизиса были выделены прямые корреляции слабой силы с *P.gingivalis* ($r_s=0,239$, $p=0,002$, таблица 20) и *Tr.denticola* ($r_s=0,166$, $p=0,033$, таблица 21). Белок *Msp* (поверхностный компонент *Tr.denticola*), а также протеолитические ферменты (дентилизин) обладают цитотоксической активностью на фибробласты десны и эпителиальные клетки. Фимбрии *P.gingivalis* ингибируют клеточный апоптоз, однако корреляционный анализ в нашем исследовании показал прямую статистически значимую взаимосвязь, за счет выделяемых ферментов [83]. Роль фимбрий высока и заключается также в том, что они облегчают адгезию к клеткам эпителия полости рта или фибробластам, что в свою очередь с одной стороны влияет на функциональное состояние клеток буккального эпителия за счет инвазивных свойств пародонтопатогенов, обеспечивая пассажирускую адгезию *P.gingivalis* и с другой стороны на состояние эндотелия [128].

В результате нарушения клеточного деления или фрагментации ядра образуются микроядра. По данным изучения микроядерного теста у пациентов с ВЗП в южных регионах Российской Федерации, микроядра встречались с меньшей частотой [26,39]. Проведенный корреляционный анализ взаимосвязи

частоты встречаемости клеток с микроядрами с пародонтопатогенными бактериями в обеих группах выявил прямые корреляции средней и слабой силы в отношении всех пародонтопатогенов, в том числе с ассоциацией *P.gingivalis* и *T.forsythia* (таблица 20). Корреляционная взаимосвязь слабой силы была выявлена в отношении *A.actinomycetemcomitans* и *C.albicans*. Однако, изучение критериев в группах выявили корреляции только в отношении *P.gingivalis*, *T.forsythia* и *T.denticola*. Другой цитогенетической аномалией регистрируемой в нашем исследовании были клетки с протрузиями, которые также с большей частотой выявлялись у пациентов с хроническим пародонтитом (таблица 19). Корреляционные взаимосвязи слабой и средней силы были выявлены со всеми пародонтопатогенами, за исключением *A.actinomycetemcomitans* (таблица 20). Таким образом, к причинам появления данной аномалии можно отнести воздействие ранее описанных факторов агрессии пародонтопатогенов, выявленных при воспалительных заболеваниях пародонта, а также действующих в Арктической зоне стрессовых факторов.

Логистический регрессионный анализ показал, что с каждым увеличением на 1 микроядро, вероятность пародонтита повышается в 1,5 раза. Кроме того, проведенный метод ROC-кривых позволил найти возможное оптимальное значение показателя количества микроядер позволяющее классифицировать участников исследования по степени риска пародонтита, при этом обладающее наилучшим сочетанием чувствительности и специфичности (рисунок 11): оптимальным является градация до 3,5 микроядер – низкий риск и >3,5 – высокий риск пародонтита. Таким образом, частоту встречаемости микроядер можно рассматривать в качестве возможного прогностического критерия пародонтита.

Цитоморфологические признаки нарушения пролиферации достоверно чаще регистрировались в соскобах у лиц с воспалительными заболеваниями пародонта (таблица 19). Увеличение регистрации двуядерных клеток может говорить о усилении регенеративных процессов и повышении пролиферативной активности. Появление многоядерных клеток буккального эпителия, чаще являются результатом слияния клеток или нарушением процесса цитотомии, что в свою очередь, может быть результатом влияния таких факторов, как стресс,

микробная инвазия и воспалительные процессы в полости рта. Между двуядерными клетками и всеми пародонтопатогенами, кроме *A.actinomycetemcomitans*, выявлена прямая корреляционная связь средней силы, за исключением *C.albicans* ($r_s=0,215$, $p=0,005$, таблицы 20 и 21).

Сдвиги ядерно-цитоплазматического соотношения в сторону увеличения площади ядра, свидетельствовали о нарастании дистрофических процессов в клетках буккального эпителия (рисунок 6) [54]. Анализ взаимосвязи с пародонтопатогенами выявил прямые корреляции слабой силы со следующими пародонтопатогенами: *P.gingivalis*, *T.forsythia*, *T.denticola* и ассоциацией *P.gingivalis* с *T.forsythia* (таблицы 20 и 21).

В основе альтерации эпителиальной ткани и появления цитоморфологических аномалий буккального эпителия лежит микробный фактор, который играет ведущую роль в возникновении и прогрессировании хронического пародонтита, что также нашло отражение в результатах нашего исследования [83,138].

Функциональное состояние клеток буккального эпителия напрямую влияет на уровень экспрессии сигнальных молекул - цитокинов, хемокинов, эндотелина и другие [26,39,40,64,72]. В связи с этим был проведён корреляционный анализ с изучаемыми провоспалительными цитокинами (таблица 22). Так, выявлены прямые корреляции средней силы в отношении всех изучаемых медиаторов воспаления и цитогенетическими нарушениями, а также показателями пролиферации. Данные результаты свидетельствуют о повышении экспрессии провоспалительных цитокинов в синергизме с нарастанием частоты встречаемости цитоморфологических нарушений.

Находясь под влиянием бактериальных хемотаксических факторов, десневая жидкость является обменной средой, благоприятствуя миграции лейкоцитов из сосудов сквозь эпителий в десневой желобок и находится под влиянием бактериальных хемотаксических факторов. Воспаление тканей пародонта сопровождается повышением числа мигрирующих лейкоцитов, повышением адгезивности эндотелия и его дисфункцией что, вероятно, обусловлено необходимостью создания препятствий пенетрации

пародонтопатогенной микрофлоры в эпителий желобка и в подлежащие ткани пародонта. Повреждению мембран стенок эндотелиоцитов и токсигенному действию на эндотелий способствуют факторы агрессии пародонтопатогенов. Экспрессия медиаторов воспаления клетками эпителия является одним из патогенетических звеньев развивающейся эндотелиальной дисфункции [33,60,99]. Таким образом, исследование маркеров эндотелиальной дисфункции в патогенезе хронического пародонтита, представляет особый интерес.

Полученные результаты показали, что уровень молекул суперсемейства иммуноглобулинов и селектинов у больных хроническим пародонтитом значительно превышали показатели в группе контроля, пропорционально тяжести заболевания (таблицы 24 и 25), что соотносится с результатами по изучению сывороточных концентраций молекул адгезии при пародонтите [33].

Молекулы VCAM и ICAM-1 выполняют селективную лейкоцитарную адгезию, которая способствует накоплению мононуклеаров в момент перехода острой фазы в хроническую, с лейкоцитарно-эндотелиальным взаимодействием. ICAM-1 совместно с рецептором LFA-1 обеспечивают выработку T-лимфоцитов, а сочетанное действие T-клеточных рецепторов и CD2 оказывает влияние на изменение состояния LFA-1 с дальнейшим повышением связывания с ICAM-1. Повышение уровня молекул межклеточной адгезии свидетельствует о персистирующем воспалении, спровоцированном патогенной флорой, что находит отражение в выявленных корреляциях sICAM-1 и sVCAM с маркерными пародонтопатогенами: *P. gingivalis*, *T. forsythia* и *A. actinomycetemcomitans* (таблица 27)[60,97]. А также 2 порядка: *P.intermedia* и *T.denticola*. Так, установлено, что гликопротеин *P. intermedia* и фимбрии *P. gingivalis* стимулируют экспрессию ICAM-1 на фибробластах десны [83].

Быстрому попаданию в десневой эпителий внешних молекул и иммунных клеток способствует повышение проницаемости эпителия [89]. Известно, что L-селектин способствует формированию феномена «катящихся» нейтрофилов в сосудах с адгезией лейкоцитов к эндотелию, приводя к их накоплению в зоне воспаления. При этом металлопротеиназы способствуют расщеплению sL-

селектина с дальнейшим снижением контроля sL-селектин-опосредованной адгезии. Индуцибельная адгезивная молекула sE-селектина синтезируется и экспрессируется эндотелиальными клетками после стимуляции провоспалительными цитокинами (что подтверждается выявленными прямыми корреляциями с медиаторами воспаления, таблица 28), либо бактериальными эндотоксинами (таблица 27) [33,97,99].

Существенный вклад в формирование устойчивости к антибактериальным препаратам вносят механизмы адаптации микроорганизмов, образованных в биопленки, в том числе пародонтопатогенами [82]. Полость рта можно рассматривать, как благоприятную среду антигенов резистентности, по причине экспрессии микробами генов устойчивости к антибиотикам, что повышает риск мультирезистентных бактериальных инфекций [19,46]. В основе устойчивости к антибактериальным препаратам группы пеницилинов и цефалоспоринов лежит разрушение группой ферментов - β -лактамазами, разрывающих β -лактамные связи в молекулах [74].

Выявленные гены резистентности к антимикробным препаратам, преимущественно в группе с хроническим пародонтитом, подтверждают темпы распространения антибиотикорезистентности. По нашим результатам (таблица 10) высокий уровень генов антимикробной резистентности наблюдался по генетическим маркерам к пенициллинам и цефалоспорином, самый низкий уровень выявлен к карбапенемам (ОХА-51). Большинство анаэробных бактерий чувствительны к карбапенемам. Основное применение карбапенемов - реанимационные мероприятия. Выявленные гены устойчивости к карбапенемам говорят о сужении препаратов выбора эффективной антибиотикотерапии, что может представлять реальную угрозу здоровью и жизни человека, особенно в хирургических стационарах [41].

Для эффективного прогнозирования механизмов развития хронического пародонтита, а также назначения этиологического лечения необходимо учитывать роль микробиома пародонтального сообщества, уровень антибиотикорезистентности и чувствительность пародонтопатогенов. Аккумуляция знаний о детерминантах устойчивости бактерий, применении

антибактериальных препаратов и изучение факторов иммунного реагирования будут способствовать переходу к персонифицированной медицине в стоматологической практике.

В целом вышеизложенное свидетельствует о наличии специфических региональных экологических факторов риска формирования и развития ВЗП. Изменение подходов к лечению ВЗП, обусловлено высокой распространенностью и многогранностью этиопатогенеза данной патологии, и направлен в сторону экологического и микробиологического подхода, что диктует необходимость постоянного поиска новых медикаментов, а также усовершенствования форм лекарственных препаратов, с уже доказанной эффективностью [127]. Проведенное исследование позволило разработать алгоритм диагностических и лечебно-профилактических мероприятий у больных с хроническим генерализованным пародонтитом (рисунок 16). Таким образом, выбор метода лечения с последовательным применением геля с бактериофагами «Фагодент» и пробиотического препарата «Бактоблис», на наш взгляд, является оптимальным вариантом в качестве альтернативного применения антибактериальных препаратов.

Проведенный комплекс клинических, иммунологических и молекулярно-генетических методов исследования больных хроническим пародонтитом показал высокую эффективность выбранного способа лечения, в большей степени выраженное при последовательном применении геля с бактериофагами «Фагодент» и пробиотического препарата «Бактоблис».

Эффективность проведённого лечения оценивали после проведённого первого этапа лечения (через 14 дней): в 1 подгруппе - лечение согласно клиническим рекомендациям (Пародонтит), а во 2 подгруппе - аппликации гелем с бактериофагами «Фагодент».

Так, у пациентов всех подгрупп отмечалось существенное, статистически значимое улучшение изучаемых индексов: в 1 подгруппе индекс ОНI-S снизился на 1,1, а во 2 подгруппе на 2 ($p < 0,001$). Положительная динамика индекса гигиены связана в первую очередь с высоким уровнем комплаентности после первичного приема, когда пациенты были исполнительны и старались соблюдать

рекомендации врача. Для оценки эффективности проводимого лечения индекс ОНІ-S не является показательным, несмотря на выявленные статистически значимые различия в изучаемых подгруппах. Учитывая прямую этиопатогенетическую связь развития воспалительных заболеваний пародонта и уровня гигиены полости рта - индекс ОНІ-S является неотъемлемой частью исследований в области пародонтологии.

Следует отметить, что значение индекса РМА снизилось на 51 и 60 баллов соответственно по подгруппам ($p=0,011$). Положительная динамика индекса РМА была связана с улучшением гигиены полости рта, проведенными манипуляциями и медикаментозной терапией. В обеих подгруппах индекс снизился до значений соответствующих легкой степени воспаления. Однако, во второй подгруппе снижение индекса было выражено в большем эквиваленте. Индекс РМА в подгруппах с учетом степени тяжести не выявил статистически значимых различий. Кроме того, значение индекса РМА использовалось для оценки эффективности лечения (индекс Улитовского). Так, эффективность лечения с использованием традиционных методик на 4,5% уступала когорте с предложенным способом лечения уже на данном этапе.

Кровоточивость десны по данным индекса Muhlemann-Saxer уменьшилась на 1,1 в первой подгруппе и на 2 во второй группе ($p<0,001$), что коррелировало с индексом гигиены ОНІ-S и РМА. Глубина пародонтального кармана уменьшилась до 4,7 [4,3;4,9], $p=0,032$. Степень подвижности зубов снизилась в меньшей степени в сравнении с другими индексами: на 0,1 в 1 подгруппе и на 0,5 во второй ($p=0,045$, таблица 34).

Динамика клинических показателей, зафиксированная после первого этапа лечения и описанная выше, подтверждена данными микробиологического и иммунологического обследования.

Результаты лабораторного исследования выявили превалирование анаэробных пародонтопатогенных бактерий 1 и 2 порядка в группе пациентов с хроническим пародонтитом, что подчеркивает этиопатогенетическую связь развития воспалительных заболеваний пародонта с нарушением эндэкологического баланса микробиома рта [83].

На фоне проводимого лечения в исследуемых группах отмечена тенденция к снижению пародонтопатогенной микробиоты вне зависимости от тактики лечения (таблица 37). В то же время у 17% пациентов 1 подгруппы после проведенного лечения были выявлены ассоциации пародонтопатогенов 1 порядка: *P.gingivalis*+*T.forsythia*, *P.gingivalis*+*P.intermedia*, *P.gingivalis*+*T.forsythia*+*A.actinomycetemcomitans*. В 1 подгруппе количественное содержание пародонтопатогенов снизилось в среднем на 0,5 IgKOE/мл. Генетические маркеры основных пародонтопатогенов снизились после лечения с применением геля с бактериофагами в среднем на 2 IgKOE/мл, но при этом следует отметить наличие пародонтопатогенов *T. Forsythia* - 1,4[1,1;1,7], *P. Intermedia* -0,84 [0,82; 0,87] и *P. gingivalis* - 1 [1;1,3].

При анализе колонизации пародонтального кармана пародонтопатогенами с помощью корреляционного анализа Спирмена выявлены существенные прямые корреляции в отношении индекса РМА для *P.gingivalis* ($r_s=0.724$; $p<0,001$), *T.forsythia* ($r_s=0,716$; $p<0,001$), *T.denticola* ($r_s=0,702$; $p<0,001$) и *P.intermedia* ($r_s=0,695$; $p<0,001$), а также ИК: *P.gingivalis* ($r_s=0,691$; $p<0,001$), *T.forsythia* ($r_s=0,723$; $p<0,001$), *T.denticola* ($r_s=0,720$; $p<0,001$) и *P. intermedia* ($r_s=0,698$; $p<0,001$). Наличие ассоциации *P.gingivalis*+*P.intermedia* коррелировало с показаниями индекса кровоточивости ($r_s=0,757$; $p<0,001$). Прямая корреляция средней и сильной связи, выявленная в оценке степени деструкции костной ткани и пародонтопатогенных бактерий, а также глубины пародонтальных карманов, указывает на то, что при прогрессировании деструктивных изменений костной ткани наиболее часто регистрируются облигатные анаэробы (*T.forsythia* и *P.gingivalis*). Таким образом, можно отметить, что в большей степени с проявлениями воспалительно-деструктивных процессов в тканях пародонта ассоциированы с *T.forsythia* и *P.gingivalis*, а также ее комбинация с *P.intermedia*. Более того, *P. gingivalis* можно охарактеризовать как “ключевой патоген”, который поддерживает и формирует микробное сообщество способами, которые также способствуют патогенезу заболевания [100].

Установленные ассоциации трех пародонтопатогенов после проведенного первого этапа лечения выявили положительные прямые корреляции слабой и

средней силы с уровнями IL-1-бета ($r_s=0,285$, $p=0,004$) и IL-6 ($r_s=0,385$, $p<0,001$), что позволяет предположить, что решающим фактором в стимулировании высвобождения провоспалительных интерлейкинов играет именно коагрегация микробов «красного комплекса». При разрушении клеточной стенки Гр(-) бактерий происходит выброс эндотоксинов (липополисахарида), длительная персистенция которого приводит к сохранению синтеза медиаторов воспаления на высоком уровне.

Содержание IL6 после первого этапа лечения в 1 подгруппе снизилось на 4,28 пг/мл в группе ХГП легкой степени тяжести и на 11,9 пг/мл в группе с ХГП средней степени тяжести. Во 2 группе после применения бактериофага уровень IL6 снизился на 7,0 пг/мл ($p<0,001$) и на 40 пг/мл ($p<0,001$) в подгруппах по степеням тяжести соответственно. Уровень исследуемого провоспалительного цитокина IL-1-β снизился в 1 подгруппе на 5,4 пг/мл в (ХГП легкой степени тяжести) и на 23,7 пг/мл (ХГП средней степени тяжести). Во 2 подгруппе после лечения бактериофагом IL-1-β снизился в подгруппах на 12,7 пг/мл ($p=0,002$) и на 54,3 пг/мл ($p=0,028$). Определение содержания TNF-α в смывах пародонтального кармана показало, что в результате лечения в 1 подгруппе показатель снизился на 6 пг/мл (ХГП легкой степени тяжести) и на 10,6 пг/мл (ХГП средней степени тяжести). После применения бактериофага TNF-α был ниже и уменьшился на 7,12 пг/мл ($p=0,515$) и на 28,7 пг/мл ($p=0,001$) по степеням тяжести соответственно.

Изучение функционального состояния буккального эпителия на данном этапе, показало, что Сядра эпителиоцитов уменьшилась на 0,4 мкм² в обеих подгруппах ($p=0,946$). В то время как Сцитоплазмы уменьшилась на 1,6 мкм² в 1 подгруппе и наоборот увеличилась на 0,21 мкм² во второй ($p=0,115$). Соответственно ЯЦО уменьшилось на 0,003 в 1 подгруппе и на 0,007 мкм² во второй, за счет смещения в сторону ядра ($p=0,068$). Индекс дифференцировки клеток приближался к удовлетворительным значениям, в большем эквиваленте во второй подгруппе, что говорит о нормализации регенеративных процессов в эпителии. Данное высказывание нашло отражение и в результатах индекса кератинизации. Так, повышение процентного соотношения безъядерных клеток в обеих подгруппах свидетельствует о нормализации естественных процессов

старения эпителиоцитов [54]. На усиление неспецифической резистентности полости рта указывают значения индекса РАМ, в подгруппах выросло число пациентов с удовлетворительными показателями РАМ.

На данном этапе установлено снижение показателей цитологических нарушений: количество регистрируемых микроядер уменьшилось на 1,02 в 1 подгруппе и на 2,5 во второй. Вероятно, это напрямую связано со снижением пародонтопатогенной микрофлоры, а именно воздействия факторов агрессии бактерий, что было подтверждено проведенным корреляционным анализом. Так, прямые корреляции средней силы были выявлены преимущественно с пародонтопатогенами красного комплекса: *P.gingivalis* ($r_s=0,525, p<0,001$), *T.forsythia* ($r_s=0,551, p<0,001$), *P.intermedia* ($r_s=0,521, p<0,001$) и *Tr.denticola* ($r_s=0,493, p<0,001$), а также с ассоциацией *P.gingivalis* и *T.forsythia* ($r_s=0,501, p<0,001$). Другой показатель - частота встречаемости протрузии ядра снизилась практически до нулевых значений, что говорит о снижении цитогенетический нарушений эпителиоцитов [115]. Более выраженное воздействие установлено во 2 подгруппе.

Снижение пролиферативной активности буккального эпителия говорит о стабилизации сепаративной активности клеток эпителиальной пластинки и оценивалось в регистрации двуядерных клеток. В 1 подгруппе частота встречаемости двуядерных клеток снизилась на 1,1, а во 2 подгруппе на 4, что обусловлено снижением факторов риска нарушения процессов цитотомии, в том числе микробной инвазии и воспалительных процессов. Выявленные прямые корреляционные взаимосвязи средней силы с пародонтопатогенами и их ассоциациями подтверждают данный вывод.

Анализ исходного уровня изучаемых молекул адгезии в подгруппах не выявил статистически значимой разницы (таблица 40), в том числе в подгруппах по степени тяжести (таблица 41). После первого этапа лечения уровень молекул суперсемейства иммуноглобулинов снизился в среднем на 40 нг/мл в 1 подгруппе и на 53 нг/мл во 2 подгруппе (таблица 40). Молекулы семейства селектинов снизились на 1,1 нг/мл (sE-селектин) и на 5,2 нг/мл (sL-селектин) в 1 подгруппе; на 3,85 нг/мл (sE-селектин) и на 8,3 нг/мл (sL-селектин) в подгруппе с

предложенным способом лечения (таблица 40). Изучение взаимосвязи снижения уровня молекул адгезии и пародонтопатогенных бактерий, выявил прямые корреляции средней силы, за исключением *T.forsythia* (обратная, слабой силы, статистически не значимая).

Применение геля с бактериофагами в большей степени способствовало снижению исследуемых индексов, кровоточивости десен, благодаря направленному антибиотическому действию в отношении основных пародонтопатогенных бактерий. Механизм действия бактериофагов основан на способности фагов путем диффузии проникать в слизистую оболочку и прикрепляться к поверхности бактериальных клеток, после чего фаговый вирион проникает в клетку и блокирует синтез белка [115].

Однако, так как нами не была получена полная элиминация пародонтопатогенов, а также референсные значения лабораторных показателей, нами было принято решение назначить пробиотическую коррекцию препаратом «Бактоблис» во 2 подгруппе, содержащим *Streptococcus salivarius K12* сроком на 30 дней. По истечении проведена повторная оценка клинических, микробиологических и иммунологических показателей.

Так, значение индекса ОНI-S не изменилось и оставалось на прежнем уровне. Индекс РМА снизился на 5 баллов ($p=0,011$), а индекс кровоточивости до 0 ($p<0,001$), что соответствует полному отсутствию кровоточивости десен. степень подвижности зубов снизилась на 0,3. Глубина пародонтального кармана достигла 4,3 [4;4,8], $p=0,021$. Также на данном этапе было оценено изменение индекса Фукса: в 1 подгруппе он увеличился на 0,05, а во второй подгруппе на 0,1 ($p=0,067$). В обеих когортах значение соответствовало резорбции на 1/3 длины корня, а исходное среднее значение ИФ было пограничным между 1/2 и 1/3 длины корня.

Последовательное применение геля с бактериофагом и пробиотического препарата позволило достичь эффективности лечения по индексу Улитовского в 85,6%, что на 11,7% выше, чем в 1 подгруппе.

После проведенного 2 этапа лечения с применением *Streptococcus salivarius K12* во 2 исследуемой подгруппе, содержание пародонтопатогенных бактерий в

исследуемом материале существенно снизилось до нормальных значений (до 2 lg КОЕ/мл) и составило: *P.gingivalis* - 0,7 [0,5;1,0], $p<0,001$; *P.intermedia* - 0,69 [0,66;0,82], $p<0,001$; *T. forsythia* - 0,9 [0,5;1,1], $p=0,905$ (таблица 37).

Анализ количества пародонтопатогенов в содержимом пародонтального кармана во 2 подгруппе прямо пропорционально коррелировал с уровнями исследуемых цитокинов. Так, были выявлены корреляции средней силы между уровнем *P.gingivalis* и IL1 β ($r_s=0,589$, $p<0,0001$), IL-6 ($r_s=0,501$, $p<0,0001$) и TNF- α ($r_s=0,423$, $p<0,0001$), а также между *P.intermedia* и IL1 β ($r_s=0,442$, $p<0,0001$), IL-6 ($r_s=0,372$, $p=0,0001$) и TNF- α ($r_s=0,302$, $p=0,0022$).

Иммуноферментный анализ исследуемых цитокинов показал, что интерлейкин 6 после применения *Streptococcus salivarius K12* уменьшился на 4,7 пг/мл ($p<0,001$) и на 8,3 пг/мл ($p<0,001$). Интерлейкин 1 β на 4,34 пг/мл ($p<0,001$) и на 2,8 пг/мл ($p=0,020$) соответственно подгруппам по степени тяжести. Таким образом, несмотря на выраженную адгезию к фибробластам, *S. salivarius K12* не индуцировал экспрессию генов IL-6 и IL-1 β . А также был зафиксирован самый низкий уровень TNF- α (2,13 в подгруппе ХГП с легкой степенью тяжести и 2,11 в подгруппе со средней степенью тяжести ($p=0,001$; $p=0,001$)) (таблица 38)

Положительная тенденция функционального состояния буккального эпителия установлена на данном этапе: частота выявления цитологических нарушений стремилась к нулю, индексная оценка к удовлетворительным показателям.

Снижение уровней исследуемых молекул межклеточной адгезии достигло своего минимума, что в итоговом эквиваленте в 8 раз ниже исходных значений, что говорит о снижении степени воспалительного процесса и прекращении повреждения эндотелиоцитов, опосредованном пародонтопатогенными микроорганизмами. Таким образом, лизис бактериальных клеток может быть ответственным за высвобождение иммуностимулирующих патоген-ассоциированных молекулярных паттернов, приводящих к запуску процессов репарации эндотелия на фоне снижения синтеза адгезивных молекул.

Через 3 месяца после завершения курса лечения в 1 подгруппе зафиксирована тенденция к ухудшению клинических данных: ОНІ-S увеличился

на 0,2, а во 2 подгруппе не изменился, что вероятно связано с такими причинами, как забывчивость, снижение уровня мотивации и улучшение состояния десен, внимание к чистке зубов у пациентов 1 подгруппы снизилось, а во 2 подгруппе практически не изменилось. Возможно, более длительное лечение способствовало формированию более ответственного отношения к уровню гигиены полости рта.

Подобная тенденция зафиксирована 1 подгруппе: ухудшение значений индекса РМА на 13 и на 7 баллов во 2 подгруппе. Таким образом в первой подгруппе РМА соответствовал средней степени воспаления, что коррелировало с ухудшающимся индексом гигиены ($rs=0,412$, $p=0,014$), тогда как во второй подгруппе несмотря на увеличение среднего значения индекс все еще был в границах легкой степени воспаления.

По истечении срока наблюдения в исследуемых когортах зафиксирована тенденция к увеличению средних значений индекса кровоточивости на 1 балл в обеих подгруппах ($p<0,001$).

Результаты молекулярно-генетического анализа идентифицировали низкое содержание пародонтопатогенов во 2 подгруппе до нормальных значений (до $2 \lg$ КОЕ/мл). Так, абсолютное количество *A.actinomycetemcomitans* было $0[0;1]$, *P.gingivalis* $0,3[0;0,5]$, *T.forsythia* $0,4[0;0,75]$, *T. denticola* $0,25[0;0,37]$, *P.intermedia* $0,3[0;0,54]$ и *C. albicans* - $0 [0;1]$. В 1 подгруппе количественный состав микроорганизмов представлен следующим образом: *A.actinomycetemcomitans* было $0,7[0,5;1]$, *P.gingivalis* $2[1,7;2,4]$, *T.forsythia* $1,7[1,3;2,2]$, *T. denticola* $1,4[1;1,9]$, *P.intermedia* $1,7[1,2;2,4]$ и *C. albicans* - $0,65[0;1]$, что говорит, о восстановлении пародонтопатогенной микрофлоры.

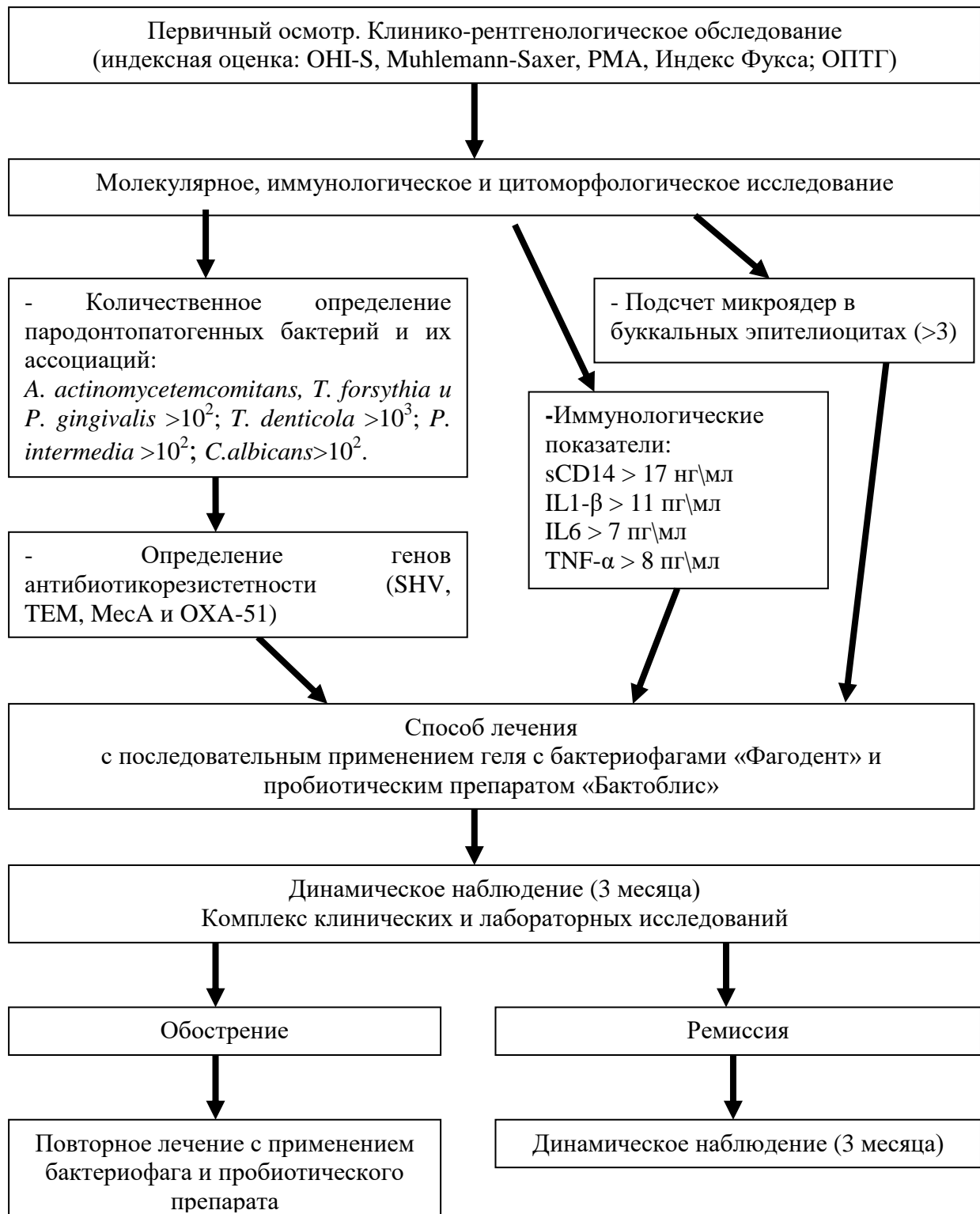
Иммунологический анализ показал, что содержание IL1- β в 1 подгруппе было $16,01[12,56;27,34]$, а во 2 подгруппе $7,01[5,7;9,3]$; IL6 был $14,22[11,35;21,02]$ и $3,45[2,4;6,3]$; TNF- α $14,59[11,72;18]$ и $5,41[3,12;7,9]$, соответственно исследуемым группам.

Регрессионный анализ показал, что сочетанное применение выбранных препаратов в 8,34 раза (ДИ $3,16-21,9$, $p<0,001$) повышает вероятность снижения IL1- β , в 10,16 раз (ДИ $3,69-27,95$, $p<0,001$) снижения IL6 и в 21 раз (ДИ $5,73-76,8$, $p<0,001$) снижения TNF- α в отделяемом пародонтального кармана. Таким

образом, значимое снижение провоспалительных цитокинов было зафиксировано именно при последовательном применении бактериофага и пробиотической коррекции, что, вероятно, обусловлено первичным антимикробным потенциалом фага и ростом стабилизирующей микробиоты в результате применения пробиотика.

Применение пробиотического препарата позволило усилить эффект терапевтического лечения, что выражалось в достоверном снижении пародонтопатогенной микробиоты (рисунок 15). *Streptococcus salivarius* K12 обладает высокой способностью к адгезии к тканям рта, модулирует микробиом, обладая ингибирующим действием на пародонтопатогены, во многом за счет выработки бактериоцинов, помогая обеспечить штаммы *S. salivarius* экологическим преимуществом в бактериальном сообществе. *S. salivarius* быстро достигает численного превосходства и конкурирует за сайты адгезии, что играет важную роль в поддержании сбалансированной экосистемы данного биотопа [34]. Применение комплекса предложенных препаратов позволило достичь устойчивой ремиссии заболевания спустя 3 месяца после лечения.

Алгоритм диагностики и лечебно-профилактических мероприятий у больных
хроническим генерализованным пародонтитом



*Примечание: способ лечения должен включать профессиональную гигиену рта, обучение контролируемой индивидуальной чистке зубов с подбором предметов и средств. Закрытый бюндж при необходимости. Направление на санацию рта [32,52].

Рисунок 16. Алгоритм диагностики и лечения хронического пародонтита

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Алгоритм диагностики ВЗП, должен включать определение маркерных пародонтопатогенов, обеспечивающих активацию местного воспалительного иммунного ответа, приводящую к деструкции буккального эпителия.

Возникновение и прогрессирование воспалительных заболеваний пародонта обусловлено ролью микроорганизмов «красного комплекса», таких как *P. gingivalis* и *T. forsythia*, которые обладают высокими инвазивными и токсическими свойствами.

Вероятно, sCD14 участвует в патогенетических механизмах возникновения и прогрессирования воспалительных заболеваний пародонта, что обусловлено действием факторов агрессии пародонтопатогенных бактерий. Определение концентрации sCD14 может быть прогностическим критерием перехода гингивита в пародонтит, а также отражать тяжесть заболевания. Токсины и факторы агрессии *P. gingivalis* и *T. Forsythia*, а также их ассоциации, способствуют секреции провоспалительных цитокинов и маркера sCD14, что выражается в сдвигах репаративной регенерации слизистой оболочки рта, индукции резорбирующей активности остеокластов, и в конечном итоге потере пародонтального прикрепления и разрушению альвеолярной кости.

Воспаление пародонтальных тканей обусловлено нарушением эндоэкологического равновесия: кумулятивным действием приоритетных пародонтопатогенов, инициирующих иммунный ответ, повреждающий тканевое микроокружение, в том числе, клетки буккального эпителия. Цитологическое изучение клеток эпителия щеки может быть использовано, как диагностический критерий оценки локального и системного реагирования организма при воспалительных заболеваниях пародонта, а также анализа эффективности проведенного лечения.

Предложенный способ лечения эффективен в лечении хронического генерализованного пародонтита. Высокие терапевтические результаты последовательного применения бактериофага «Фагодент» и пробиотического препарата «Бактоблис» при лечении хронического генерализованного пародонтита обусловлены снижением численности пародонтопатогенов и

снижением иммунного воспаления в тканях пародонта, что позволяет добиться длительной ремиссии за счет эффекта колонизационной резистентности.

ВЫВОДЫ

1. Ведущая роль в возникновении хронического пародонтита принадлежит пародонтопатогенам 1 и 2 порядка: *T.forsythia* (3,15 [2,1; 4] lg КОЕ/мл, $p < 0,001$), *T.denticola* (2,1 [1,9; 2,8] lg КОЕ/мл $p < 0,001$) и *P.gingivalis* (3,7 [2,7; 4,15] lg КОЕ/мл, $p < 0,001$).

2. Инвазивные, адгезивные и токсические свойства маркерных пародонтопатогенов и их ассоциаций лежат в основе повышения концентрации провоспалительных цитокинов (IL1- β - 30,07, $p < 0,001$; IL6 - 20,41, $p < 0,001$; TNF- α - 17,81, $p < 0,001$) и маркера микробной транслокации sCD14(20,3 $p < 0,001$).

3. Выявление высокого уровня секреции молекул межклеточной адгезии (sICAM-1 - 79,05, $p < 0,001$; sVCAM - 72,8, $p < 0,001$; sE-селектина - 6,9, $p < 0,001$ и sL-селектина – 12,0, $p < 0,001$) свидетельствует о персистирующем воспалительном процессе, обусловленном ассоциациями пародонтопатогенов 1 и 2 порядка и экспрессией провоспалительных цитокинов.

4. Снижение реактивности эпителиоцитов, угнетение местного и системного иммунного ответа на микробную инвазию проявляется появлением нетипичных эпителиальных клеток с микроядрами (86%, $p < 0,001$), протрузиями (68%, $p < 0,001$) нарушением процессов дифференцировки (84%, $p < 0,001$) и кератинизации (91%, $p < 0,064$).

5. Алгоритм диагностики хронического генерализованного пародонтита включает результаты клинико-рентгенологических, молекулярных иммунологических и цитологических исследований для обоснования тактики патогенетического лечения с последовательным применением бактериофага и пробиотика с исключением приема антибактериальных препаратов системного действия.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшие исследования в области диагностики и лечения пациентов пародонтологического профиля необходимо сосредоточить на более глубоком и длительном изучении факторов врожденного иммунитета, а также особенностях межмикробного взаимодействия с целью совершенствования алгоритма диагностики и лечения воспалительных заболеваний пародонта.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В алгоритме диагностики воспалительных заболеваний пародонта необходимо учитывать дифференциально-диагностические критерии по показателям инвазивных, адгезивных и токсических свойств приоритетных пародонтопатогенов и их ассоциаций, лежащих в основе сдвигов регенеративной репарации слизистой рта и регуляции факторов врожденного иммунитета.

2. Комплекс лечебных мероприятий у пациентов с ХГП может включать комбинацию бактериофага «Фагодент» и пробиотического препарата «Бактоблис», которая направлена на восстановление базового состава микробиоты десневой борозды и снижение иммунного воспаления в тканях пародонта, что выражается в продолжительной ремиссии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ВЗП – воспалительные заболевания пародонта
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ДИ – доверительный интервал
- ИДК – индекс дифференцировки клеток
- ИК – индекс кератинизации
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ИФ – индекс Фукса
- КПУ – кариес, пломба, удаленный зуб
- ЛПС - липополисахарид
- ЛСБ – липополисахарид-связывающий белок
- ПК – пародонтальный карман
- ПЦР-РТ - полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
- РАМ – реакция адсорбции микроорганизмов
- СГМУ – Северный государственный медицинский университет
- СОР – слизистая оболочка рта
- ХГП – хронический генерализованный пародонтит
- ЧЛО – челюстно-лицевая область
- СРІ – Community Periodontal Index
- IL – интерлейкин
- М – средняя арифметическая
- Md – медиана
- ОНИ-S – Oral Hygiene Index-Simplified
- OPG – остеопротегерин
- Q₁ – первый квартиль
- Q₃ – третий квартиль
- RANK – рецептор активатора ядерного фактора каппа В
- RANKL – лиганд рецептора активатора ядерного фактора каппа В
- TNF- α – фактор некроза опухоли альфа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Актуальная антибиотикотерапия в пародонтологии / Л. Ю. Орехова, Е. С. Лобода, Е. В. Косова и др. // Пародонтология. – 2020. – Т. 25, № 3. – С. 217-223. doi:10.33925/1683-3759-2020-25-3-217-223
2. Багатаева, П. Р. Стоматологический статус и потребность в лечении у лиц пожилого и старческого возраста, проживающих в различных климатогеографических зонах : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.14 / Багатаева Патимат Расуловна ; [Место защиты: Первый Моск. гос. мед. ун-т. им. И.М. Сеченова]. – М., 2020. – 25 с.
3. Березин, И. С. Перспективы борьбы с ростом антимикробной резистентности бактерий [Электронный ресурс]. – URL: <https://vrachirf.ru/concilium/63013.html> (дата обращения: 04.02.2020)
4. Биопленки: основные принципы организации и методы исследования : учеб.-метод. пособие / А. М. Марданова, Д. А. Кабанов, Н. Л. Рудакова, М. Р. Шарипова. – Казань : Центр печати «Линк», 2016. – 48 с.
5. Булкина, Н. В. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. Особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита / Н. В. Булкина, В. М. Моргунова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2. – С. 416-420.
6. Бурлев, В. А. Роль растворимых и клеточных селектинов в наступлении беременности при лиганд-рецепторных взаимодействиях эмбриона и эндометрия / В. А. Бурлев // Проблемы репродукции. – 2014. – № 5. – С. 66-72.
7. Видовой состав анаэробной микрофлоры пародонтального кармана в зависимости от стадии пародонтита / Н. В. Зырянова, А. С. Григорьян, А. И. Грудянов [и др.] // Стоматология. – 2009. – Т. 88, № 4. – С. 43-47.
8. Влияние возрастного фактора и социального статуса пациентов на приверженность к профилактическим мероприятиям в полости рта / В. В.

- Тачалов, Т. В. Кудрявцева, Л. Ю. Орехова [и др.] // Пародонтология. – 2022. – Т. 27, № 3. – С. 234-241. <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2022-27-3-234-241>
9. Володина, Е. В. Анализ чувствительности микробных ассоциаций, выделенных у пациентов с пародонтитом, к антибиотикам / Е. В. Володина, В. А. Багдасарян // Электронный научно-образовательный вестник. Здоровье и образование в XXI веке. – 2014. – Т. 16, № 12. – С. 15-16.
 10. Возможности лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом в современных условиях / Л. М. Цепов, А. И. Николаев, Н. Левченкова [и др.] // Пародонтология. – 2017. – Т. 22, № 2. – С. 40-46.
 11. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID19) [Электронный ресурс]. – URL :
https://static0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/061/254/original/BMP_COVID-19_V17.pdf?1671088207
 12. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.who.int/ru/news-room/detail/16-11-2015-who-multi-country-survey-reveals-widespread-public-misunderstanding-about-antibiotic-resistance> (дата обращения 04.02.2022)
 13. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.who.int/ru/publications/i/item/9789240061569> (дата обращения 04.02.2024)
 14. Гажва, С. И. Сравнительная оценка эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита легкой и средней степеней тяжести с использованием антибактериальных средств "Асепта" / С. И. Гажва, А. И. Воронина // Пародонтология. – 2009. – № 3 (52). – С. 56-60.
 15. Гольдштейн, Е. В. Антибактериальная терапия в стоматологии / Е. В. Гольдштейн, Е. Л. Сокирко // Институт стоматологии. – 2018. – № 1. – С. 74-76.
 16. Губайдуллин, А. Г. Сравнительный анализ литического действия собственного бактериофага и поливалентного биологического препарата"

- ФАГОДЕНТ" / А. Г. Губайдуллин, М. М. Туйгунов // Инфекция и иммунитет. – 2017. – № 5. – С. 918.
17. Дзампаева, Ж. В. Особенности этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта / Ж. В. Дзампаева // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – № 5. – С. 103-110. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2017-0-5>
 18. Елизова, Л. А. Новая классификация заболеваний пародонта. Пародонтит / Л. А. Елизова, В. Г. Атрушкевич, Л. Ю. Орехова // Пародонтология. – 2021. – № 26 (1). – С. 80-82.
 19. Земкова, Т. М. Применение антибактериальных препаратов при агрессивных формах пародонтита (обзор литературы) / Т. М. Еловицова, Е. Ф. Гайсина, А. С. Приходкин // Проблемы стоматологии. – 2019. – № 1 (15). – С. 10-15. doi: 10.18481/2077-7566-2019-15-1-10-15
 20. Землянко, О. М. Механизмы множественной устойчивости бактерий к антибиотикам / О. М. Землянко, Т. М. Рогоза, Г. А. Журавлева // Экологическая генетика. – 2018. – № 3 (16). – С. 4-17. doi: 10.17816/ecogen1634-17
 21. Значение вирусно-бактериального консорциума в возникновении и развитии хронического пародонтита / В. Н. Царев, Е. А. Ягодина, Т. В. Царева, Е. Н. Николаева // Пародонтология. – 2020. – Т. 25, № 2. – С. 84-89. <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2020-25-2-84-88>
 22. Зырянов, Б. Н. Адаптационные реакции и иммунитет у пришлого населения Крайнего Севера / Б. Н. Зырянов, Т. Ф. Соколова // Научный вестник Ямало-Ненецкого автономного округа. – 2021. – № 2 (111). – С. 48-58. doi: 10.26110/ARCTIC.2021.111.2.003
 23. Ипполитов, Е. В. Биоплёнка полости рта – индукторы сигнальных систем врожденного иммунитета / Е. В. Ипполитов, Е. Н. Николаева, В. Н. Царев // Стоматология. – 2017. – Т. 96, № 4. – С. 58-62.
 24. Ипполитов, Е. В. Мониторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики воспалительных заболеваний пародонта : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 03.02.03, 14.03.09 / Ипполитов Евгений Валерьевич;

- [Место защиты: Первый Моск. гос. мед. ун-т. им. И.М. Сеченова]. – Москва, 2016. – 48 с.
25. Ипполитов, Е. В. Особенности морфологии биопленки пародонта при воспалительных заболеваниях десен (хронический катаральный гингивит, хронический пародонтит, кандидо-ассоциированный пародонтит) по данным электронной микроскопии / Е. В. Ипполитов, Л. В. Диденко, В. Н. Царев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60, № 12. – С. 59-64.
 26. Использование микроядерного теста для оценки эффективности лечения аллергии у детей / Т. С. Колмакова, С. Н. Белик, Е. В. Моргуль, А. В. Севрюков. – Ростов-н/Д. : Издательство РостГМУ, 2013. – 31 с
 27. К вопросу антибиотикорезистентности этиологических агентов гнойно-воспалительных заболеваний у пациентов отделения челюстно-лицевой хирургии многопрофильного стационара / Н. Н. Митрофанова, М. В. Лебедев, В. Л. Мельников, А. С. Купрюшин // Известия ВУЗов. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2017. – № 3 (43). – С. 49-56.
 28. Кабанова, А. А. Резистентность к антибиотикам основных возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, выявленная в стационарах областных центров Республики Беларусь / А. А. Кабанова // Журнал ГрГМУ. – 2017. – № 2. – С. 186-191.
 29. Кабанова, С. А. Антибиотикотерапия гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области в амбулаторных условиях / С. А. Кабанова // Вестник ВГМУ. – 2008. – № 4. – С. 87-93.
 30. Клинико-лабораторные параллели при ассоциируемых с липополисахаридами грамотрицательных бактерий патологических и пограничных состояниях / А. Р. Мавзютов, К. Р. Бондаренко, Г. А. Мавзютова, Л. Р. Глазутдинова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – № 1. – С. 28-36. doi: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-1-29-36>
 31. Клинико-эпидемиологическая характеристика патологических процессов тканей пародонта воспалительно-деструктивного характера / И. Д.

- Ушницкий, А. В. Иванов, А. А. Иванова [и др.] // Якутский медицинский журнал. – 2018. – № 1. – С. 83–86. doi: 10.25789/УМЖ.2018.61.25
32. Клинические рекомендации (протоколы лечения) «Пародонтит» [Электронный ресурс] / О. О. Янушевич, Э. М. Кузьмина, Ю. М. Максимовский [и др.]. – URL: <https://e-stomatology.ru/director/protokols/> (дата обращения: 29.06.2023)
33. Кордюк, М. Ю. Роль адгезивных молекул в патогенезе воспалительных заболеваний полости рта у детей / М. Ю. Кордюк, А. М. Петрова, М. С. Малезик // Национальная школа челюстно-лицевой хирургии и имплантологии в Иркутске : материалы XII Всерос. науч.-практ. конф. – Иркутск, 2021. – С. 85-88.
34. Лукичев, М. М. Использование бактериофагов и пробиотиков в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / М. М. Лукичев, Л. А. Ермолаева // Институт стоматологии. – 2018. – № 1 (78). – С. 84-87.
35. Маркова, С. В. Состояние здоровья детей, проживающих в Арктической зоне / С. В. Маркова, А. М. Аммосова, Н. М. Захарова // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. Серия: Медицинские науки. – 2016. – № 3 (4). – С. 46-48.
36. Матвеева, Е. В. Влияние сопутствующей соматической патологии на пародонтологические, гигиенические индексы и минеральный состав ротовой жидкости / Е. В. Матвеева, И. Н. Антонова, А. В. Кипчук // Пародонтология. – 2023. – Т. 28, № 1. – С. 67-74. <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2023-28-1-67-74>
37. Микляев, С. В. Анализ распространенности хронических воспалительных заболеваний тканей пародонта / С. В. Микляев, О. М. Леонова, А. В. Сущенко // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 2. – С. 1-8.
38. Микроэкология пародонта. Взаимосвязь локальных и системных эффектов / И. П. Балмасова, В. Н. Царев, О. О. Янушевич [и др.]. – М. : Практ. медицина, 2021. – 264 с.

39. Микроядерный тест в десневом эпителии у лиц с хроническим пародонтитом / О. В. Серикова, Б. Р. Шумилович, З. А. Филиппова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2021. – Т. 28, № 2. – С. 10–14. doi: 10.24412/1609-2163-2021-2-10-14
40. Молоканова, Ю. П. Особенности цитоморфологии буккального эпителия курящих лиц юношеского возраста / Ю. П. Молоканова // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. – 2017. – № 1. – С. 21-30. doi: 10.18384/2310-7189-2017-1-21-30
41. Невежина, А. В. Карбапенемазы как фактор устойчивости к антибактериальным препаратам / А. В. Невежина // Acta Biomedica Scientifica. – 2020. – № 6. – С. 95-105.
42. Невзорова, М. Н. Оценка состояния буккального эпителия у курящих и некурящих методом микроядерного теста / М. Н. Невзорова, Н. А. Грачева, С. В. Тихомирова // Современные проблемы биологии, экологии, химии и естественно-научного образования : сборник научных статей. – Ярославль. 2021. – С. 78-83.
43. Николаева, Е. Н. Пародонтопатогенные бактерии – индикаторы риска возникновения и развития пародонтита (часть I) / Е. Н. Николаева, В. Н. Царев, Е. В. Ипполитов // Стоматология для всех. – 2011. – № 3. – С. 4-9.
44. Об утверждении Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности : распоряжение Правительства России от 25.09.2017 г. № 2045-р. – URL: <http://government.ru/docs/29477/> (дата обращения: 07.02.2022)
45. Обзор систем пролонгированной доставки лекарственных веществ для консервативного лечения воспалительных заболеваний пародонта / Л. Ю. Орехова, Т. В. Кудрявцева, Р. С. Мусаева [и др.] // Пародонтология. – 2022. – Т. 27, № 4. – С. 298-307. doi 10.33925/1683-3759-2022-27-4-298-307
46. Основные принципы эволюции антибиотикорезистентности у бактерий Н. В. Давидович, Н. Н. Кукалевская, Е. Н. Башилова, Т. А. Бажукова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – № 6 (65). – С. 387 – 393.

47. Особенности гнойно-септической инфекции у пациентов с патологиями челюстно-лицевой области / Е. А. Степанов, Н. Н. Митрофанова, Д. А. Степанов, В. В. Мельникова // Известия ВУЗов. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2019. – № 2 (50). – С. 50-61.
48. Особенности микрофлоры пародонтальных карманов при агрессивных формах пародонтита А. В. Цимбалистов, Т. Т. Нацвлишвили, Т. И. Кадурина [и др.] // Институт стоматологии. – 2010. – № 4 (49). – С. 73-75.
49. Особенности микрофлоры полости рта у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта / Г. С. Пашкова, Д. Т. Галиева, К. Е. Исаджанян [и др.] // Лечение и профилактика. – 2013. – № 4 (8). – С. 71-76.
50. Оценка эффективности спрея на основе синтетического пептида в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита / Н. Г. Саркисян, Н. Н. Катаева, И. А. Тузанкина [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2019. – № 3-4. – С. 549-558.
51. Парахонский, А. П. Роль цитокинов в патогенезе пародонтита А. П. Парахонский, Н. Ю. Перова // Естественно-гуманитарные исследования. – 2015. – № 1 (7). – С. 75-81.
52. Пародонтология : национальное руководство / Р. А. Айвазова, Л. А. Аксамит, Л. В. Акуленко [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 752 с.
53. Патент № 2210770 Российская Федерация, МПК G01N 33/48. Способ определения состояния слизистой оболочки полости рта : № 2001131285/14 :заявл. 18.11.2001 ; опубл. 19.08.2003 / С. И. Токмакова, О. В. Бондаренко, О. В. Сысоева, А. А. Баштовой ; патентообладатель Алтайский государственный медицинский университет. – 11 с.
54. Первов, Ю. Ю. Экспресс-диагностика состояния локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки полости рта / Ю. Ю. Первов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2013. – № 1 (51). – С. 23-26.
55. Пляскина, Е. С. Роль цитокинов в патогенезе воспалительных заболеваний тканей пародонта. (Обзор литературы) / Е. С. Пляскина, А. М. Петрова //

- Актуальные проблемы патофизиологии : науч.-практ. конф. с междунар. участием, Чита, 28 октября 2020 г. – Чита, 2020. – С. 97-100.
56. Показатели естественной колонизации буккального эпителия у вегетарианцев / А. Н. Дейнега, А. В. Гостеева, О. Ю. Береснева, Н. М. Жегалина // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : сб. ст. IV Междунар. науч.-практ. конф. молодых учёных и студентов, IV Всерос. форума мед. и фарм. вузов «За качественное образование», Екатеринбург, 10-12 апреля 2019. – Екатеринбург, 2019. – Т. 1. – С. 1120-1124.
 57. Применять ли антибиотики в комплексной терапии хронических воспалительных заболеваний пародонта? (обзор литературы) / Л. М. Цепов, А. И. Николаев, М. М. Нестерова [и др.] // Вятский медицинский вестник. – 2019. – № 2 (62). – С. 93-98.
 58. Рабинович, О. Ф. Роль цитокинов и иммуноглобулинов ротовой жидкости в генезе аутоиммунных заболеваний слизистой оболочки рта / О. Ф. Рабинович, И. М. Рабинович, Е. С. Абрамова // Стоматология. – 2019. – Т. 98, № 6-2. – С. 42-45. <https://doi.org/10.17116/stomat20199806242>
 59. Распространенность устойчивости к антибиотикам среди штаммов бактерий, выделенных при хроническом пародонтите и у здоровых людей / А. А. Арутюнян, Т. В. Царева, Е. В. Ипполитов [и др.] // Российская стоматология. – 2023. – Т. 16, № 1. – С. 19-23. doi 10.17116/rosstomat20231601119
 60. Растворимые формы адгезивных молекул в сыворотке крови в качестве маркеров эндотелиальной дисфункции при хроническом генерализованном пародонтите / Т. В. Говорунова, Э. Б. Попыхова, В. Ю. Широков [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64, № 12. – С. 747-752.
 61. Роль дисфункции эндотелия сосудистой стенки в развитии нарушений микроциркуляции при воспалительных заболеваниях пародонта / В. Ю. Широков, А. Н. Иванов, А. С. Данилов [и др.] // Стоматология. – 2014. – Т. 93, № 2. – С. 67-69.
 62. Руководство по медицинской микробиологии : в 3 книгах. Книга 3, том 1 : Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика /

- под ред.: А. С. Лабинской, Н. Н. Костюковой. – Москва : БИНОМ, 2020. – 752 с.
63. Сахарук, Н.А. Микробная флора полости рта в норме и патологии. Морфология грибов рода *Candida* / Н. А. Сахарук // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2008. – Т. 7, № 2. – С. 137–143.
 64. Сигнальные молекулы в буккальном эпителии: оптимизация диагностики социально значимых заболеваний / М. А. Пальцев, И. М. Кветной, В. О. Полякова [и др.] // Молекулярная медицина. – 2012. – № 4. – С. 18-23.
 65. Современное представление о применении эндоскопической техники на пародонтологическом приеме : систематический обзор / Л. Ю. Орехова, Н. А. Артемьев, О. А. Биричева [и др.] // Пародонтология. – 2023. – Т. 28, № 1. – С. 19-30. doi 10.33925/1683-3759-2023-28-1-19-30
 66. Солдатова, Е. С. Разработка схемы комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта : автореф. дис. ... канд. медицинских наук : 14.01.14 / Солдатова Евгения Сергеевна; [Место защиты: Башкир. гос. мед. ун-т]. – Уфа, 2018. – 24 с.
 67. Солонин, Ю. Г. Медико-физиологические аспекты жизнедеятельности в Арктике / Ю. Г. Солонин, Е. Р. Бойко // Арктика: экология и экономика. – 2015. – № 1 (17). – С. 70-75.
 68. Состояние пародонтального, глоссального и иммунного статусов у мужчин с синдромом зависимости от алкоголя / К. А. Кунавина, А. С. Оправин, А. Г. Соловьев [и др.] // Пародонтология. – 2021. – Т. 26, № 1. – С. 52-57. doi 10.33925/1683-3759-2021-26-1-52-57
 69. Спиридонова, С. А. Оценка и сравнительный анализ состояния буккального эпителия и стоматологического здоровья у лиц, увлекающихся курением табачных и электронных сигарет / С. А. Спиридонова, А. Н. Солдатова, В. И. Ашкинази // Всероссийские студенческие Ломоносовские чтения : сб. ст. Всерос. науч.-практ. конф. – Петрозаводск, 2022. – С. 325.
 70. Способ применения геля фагодент в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита / Л. В. Васильева, Л. П. Полевая, А. В.

- Ушакова, А. М. Ковалевский // Инновационная деятельность в Вооруженных Силах Российской Федерации : труды Всеармейской науч.-практ. конф., Санкт-Петербург, 11-12 октября 2017 г. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 76-77.
71. Сравнительная оценка изменения микробиома пародонта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом после проведения Вектор-терапии / Е. С. Слажнева, В. Г. Атрушкевич, Л. Ю. Орехова [и др.] // Пародонтология. – 2020. – Т. 25, № 3. – С. 190-200. doi 10.33925/1683-3759-2020-25-3-190-200
72. Сравнительная характеристика цитограмм буккального эпителия в заключительный период ортодонтического лечения аномалий развития зубочелюстной системы у детей / А. В. Куркин, С. Т. Тулеутаева, Р. Ж. Есимова, Н. Ю. Куриленко // Universum: медицина и фармакология. – 2015. – № 12 (23).
73. Стоматологическое обследование: основные методы / Всемирная организация здравоохранения. – 5 изд. – М., 2013. – 135 с.
74. Супотницкий, М. В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий / М. В. Супотницкий // Биопрепараты. – 2011. – № 2. – С. 4-11.
75. Тамарова, Э. Р. Молекулярно-генетическая характеристика микрофлоры полости рта при пародонтите / Э. Р. Тамарова, Н. Р. Масагутова // Вестник Челябинского государственного университета. – 2013. – № 7 (298). – С. 70-71.
76. Ташниязов, Х. Б. Исследование особенности цитоморфологии в клетках буккального эпителия курящих студентов Термезского филиала Ташкентской медицинской академии / Х. Б. Ташниязов, Ж. М. Асфандиёров, А. Т. Ашуров // International Bulletin of Medical Sciences and Clinical Research. – 2023. – Т. 3, № 2. – С. 62-67.
77. Тец, В. В. Микробные биопленки проблемы антибиотикотерапии / В. В. Тец, Г. В. Тец // Практическая пульмонология. – 2013. – № 4. – С. 60-64.
78. Трифонов, Н. И. Экспрессия белков p16, p21 и p53 в буккальном эпителии у людей разного возраста в норме и при хроническом пародонтите / Н. И.

- Трифонов // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2018. – Т. 4, № 3. – С. 96-104. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-10
79. Усманова, И. Н. Оптимизация диагностики, лечения и профилактики воспалительных заболеваний пародонта и слизистой оболочки рта у лиц молодого возраста : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.14 / Усманова Ирина Николаевна ; [Место защиты: Башкир. гос. мед. ун-т]. – Уфа, 2016. – 46 с.
80. Флейшер, Г. М. Гигиена полости рта : монография / Г. М. Флейшер. – [Б. м.] : Издательские решения, 2019. – 622 с.
81. Функциональное состояние системы микроциркуляторного русла в тканях пародонта у лиц молодого возраста при различных видах курения / Л. Ю. Орехова, А. А. Петров, Е. С. Лобода [и др.] // Проблемы стоматологии. – 2022. – Т. 18, № 2. – С. 115-122. doi 10.18481/2077-7566-2022-18-2-115-122
82. Царев, В. Н. Генетические маркеры резистентности к антибиотикам у биоплёнокформирующих штаммов возбудителей анаэробной инфекции / В. Н. Царев, Е. В. Ипполитов, Е. Н. Николаева // Национальные приоритеты России. – 2016. – № 4 (22). – С. 136-141.
83. Царев, В. Н. Пародонтопатогенные бактерии — основной фактор возникновения и развития пародонтита / В. Н. Царев, Е. В. Ипполитов, Е. Н. Николаева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2017. – № 5. – С. 101-112. doi: 10.36233/0372-9311-2017-5-101-112
84. Царев, В. Н. Распространение генетических маркеров резистентности к антибиотикам у биопленко-формирующих штаммов облигатных и факультативных анаэробов / В. Н. Царев, Е. В. Ипполитов, Е. Н. Николаева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2017. – № 2 (94). – С. 74-80. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-2-74-80>
85. Цепов, Л. М. Роль микрофлоры в возникновении воспалительных заболеваний пародонта / Л. М. Цепов, Н. А. Голева // Пародонтология. – 2009. – № 1 (50). – С. 7-12.
86. Цитологическая характеристика буккального эпителия при хроническом генерализованном пародонтите / В. В. Базарный, Л. Г. Полушина, А. Ю.

- Максимова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – № 12. – С. 773-776.
87. Цитоморфологическая характеристика буккального эпителия курильщиков электронных сигарет / А. В. Алехина, Е. В. Честных, Т. И. Елисеева [и др.] // Институт стоматологии. – 2020. – № 3. – С. 72-73.
88. Широков, В. Ю. Изменения адгезивных свойств эндотелия сосудистой стенки у больных хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести в динамике лечения / В. Ю. Широков, О. Ю. Жданова, Т. В. Говорунова // Вестник новых медицинских технологий. – 2015. – № 4. – С. 79-83.
89. Янушевич, О. О. Десневая жидкость. Неинвазивные исследования в стоматологии : учебное пособие / О. О. Янушевич, Т. П. Вавилова, И. Г. Островская. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 160 с.
90. Amano, A. Bacterial adhesins to host components in periodontitis / A. Amano // *Periodontol.* – 2010. – № 52. – P. 12-37. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00307.x
91. Analysis of Salivary Levels of IL-1 β , IL17A, OPG and RANK-L in Periodontitis Using the 2017 Classification of Periodontal Diseases – An Exploratory Observational Study / M. Relvas, R. Silvestre, M. Gonçalves [et al.] // *Journal of Clinical Medicine.* – 2023. – Vol. 12, № 3. – P. 1003. <https://doi.org/10.3390/jcm12031003>
92. Andrian, E. Porphyromonas gingivalis-epithelial cell interactions in periodontitis / E. Andrian, D. Grenier, M. Rouabhia // *J. Dent. Res.* – 2006. – Vol. 85, № 5. – P. 392-403. doi: 10.1177/154405910608500502
93. Antibiotic Resistance: Role of General Dental Practitioners [Electronic resource]. – URL: https://www.plymouth.ac.uk/uploads/production/document/path/7/7956/Antibiotic_Resistance_-_Role_of_Dentists_Blog_K_Ali.pdf (mode access: 04.02.2020)
94. Antibiotic use in dental practice. A review / R. P. Roda, V. B. José, M. S. B. José, C. P. Enrique // *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* – 2007. – № 12. – P. 186-192.
95. Antibiotic Resistance: Role of General Dental Practitioners [Electronic resource]. – URL:

[https://www.plymouth.ac.uk/uploads/production/document/path/7/7956/Antibiotic_Resistance - Role of Dentists Blog K Ali.pdf](https://www.plymouth.ac.uk/uploads/production/document/path/7/7956/Antibiotic_Resistance_-_Role_of_Dentists_Blog_K_Ali.pdf) (mode access: 04.02.2020)

96. Antigens of bacteria associated with periodontitis / N. M. O'Brien-Simpson, P. D. Veith, S. G. Dashper, E. C. Reynolds // *Periodontology*. – 2000. – Vol. 35. – P. 101-134.
97. Association between periodontal pathogens and systemic disease / F. Q. Bui, C. L. C. Almeida-da-Silva, B. Huynh [et al.] // *Biomed. J.* – 2019. – Vol. 42, № 1. – P. 27-35. doi:10.1016/j.bj.2018.12.001
98. Barnes, T. C. The Many Faces of Interleukin-6: The Role of IL-6 in Inflammation, Vasculopathy, and Fibrosis in Systemic Sclerosis / T. C. Barnes, M. E. Anderson, R. J. Moots // *International Journal of Rheumatology*. – 2011. – Vol. 2011. – Art. 721608.
99. Bashir, R. Periodontal therapy and cell adhesion / R. Bashir, K. Chagal // *Br. Dent. J.* – 2020. – Vol. 229, № 3. – P. 151-152. doi:10.1038/s41415-020-2015-7
100. Beneficial microbes for the oral cavity: time to harness the oral streptococci? / J. P. Burton, P. A. Wescombe, P. A. Cadieux, J. R. Tagg // *Benef. Microbes*. – 2011. – Vol. 2, № 2. – P. 93-101. doi: 10.3920/BM2011.0002
101. Characteristics of cellular composition of periodontal pockets / P. Hasiuk, N. Hasiuk, D. Kindiy [et al.] // *Interv. Med. Appl. Sci.* – 2016. – Vol. 8, № 4. – P. 172-177. doi: 10.1556/1646.8.2016.4.5
102. Cytomorphometric analysis of gingival epithelium and buccal mucosa cells in type 2 diabetes mellitus patients / M. Sahu, H. Suryawanshi, S. Nayak, P. Kumar // *J. Oral Maxillofac. Pathol.* – 2017. – Vol. 21, № 2. – P. 224-228. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_152_16
103. Ding T. Dynamics and associations of microbial community types across the human body / T. Ding, P. D. Schloss // *Nature*. – 2014. – № 509 (7500). – P. 357-360.
104. Distribution and persistence of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 in the human oral cavity as determined by real-time quantitative polymerase chain reaction / H. P. Horz, A. Meinelt, B. Houben, G. Conrads // *Oral. Microbiol. Immunol.* – 2007. – № 22 (2). – P. 126-130. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00334

105. Evaluation of safety and human tolerance of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* K12: a randomized, placebo-controlled, double-blind study / J. P. Burton, S. Cowley, R. R. Simon [et al.] // *Food and chemical toxicology*. – 2011. – Vol. 49, № 9. – C. 2356-2364.
106. Haque M. Dental Infection and Resistance-Global Health Consequences / M. Haque, M. Sartelli, S. Z. Haque // *Dent. J. (Basel)*. – 2019. – Vol. 7, № 1. – P. 22. doi: 10.3390/dj7010022
107. Heitz-Mayfield L. J. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis / L. J. Heitz-Mayfield // *Periodontol.* – 2005. – Vol. 6 (32). – P. 196-209. doi: 10.1111/j.1600-051x.2005.00803.x
108. Identification of Potential Oral Microbial Biomarkers for the Diagnosis of Periodontitis / H. S. Na, S. Y. Kim, H. Han [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2020. – Vol. 9, № 5. – P. 1549. doi: 10.3390/jcm9051549
109. Kitchens R.L. Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS-host cell interactions. / Kitchens R.L. Thompson P.A. // *J. Endotoxin. Res.* 2005. – Vol. 11, №4. – P. 225-9. DOI: 10.1179/096805105X46565. PMID: 16176659.
110. Kornman K. S. Bringing light to the heat: “inflammation and periodontal diseases: a reappraisal” / K. S. Kornman, T. E. Van Dyke // *J. Periodontol.* – 2008. – Vol. 79, № 8. – P. 1313. doi: 10.1902/jop.2008.080240
111. Kwon, T. Current Concepts in the Management of Periodontitis / T. Kwon, I. B. Lamster, L. Levin // *Int. Dent. J.* – 2021. – Vol. 71, № 6. – P. 462-476. doi: 10.1111/idj.12630
112. Lamont, R. J. Subgingival colonization by *Porphyromonas gingivalis* / R. J. Lamont, H. F. Jenkinson // *Oral Microbiol. Immunol.* – 2000. – Vol. 15? № 6. – P. 341-349. doi: 10.1034/j.1399-302x.2000.150601.x
113. Landay, M. A. Differentiation in normal human buccal mucosa epithelium / M. A. Landay, H. E. Schroeder // *J. Anat.* – 1979. – Vol. 128, Pt. 1. – P. 31-51.
114. Lederberg, J. 'Ome sweet 'omics – a genealogical treasury of words / J. Lederberg, A. T. Mccray // *Scientist.* – 2001. – Vol. 15, № 7. – P. 10.
115. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement / G. Hajishengallis, S. Liang,

- M. A. Payne [et al.] // *Cell Host Microbe*. – 2011. – Vol. 10, № 5. – P. 497-506. doi: 10.1016/j.chom.2011.10.006
116. Microbial complexes in subgingival plaque / S. S. Socransky, A.D. Haffajee, M. A. Cugini [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1998. – Vol. 25. – P. 134-144.
117. Microbiome and microbial biofilm profiles of peri-implantitis: a systematic review / G. I. Lafaurie, M. A. Sabogal, D. M. Castillo [et al.] // *J. Periodontol.* – 2017. – Vol. 88, № 10. – P. 1066-1089.
118. Microbiome associated with severe caries in Canadian First Nations Children / M. Agnello, J. Marques, L. Cen [et al.] // *J. Dent. Res.* – 2017. – № 96 (12). – P. 1378-1385.
119. Molecular identification and antibiotic resistant bacteria isolated from primary dentition infections / J. P. Loyola-Rodriguez, J. O. Garcia-Cortes, R. E. Martinez-Martinez [et al.] // *Aust. Dent. J.* – 2014. – № 59. – P. 497-503. doi: 10.1111/adj12213
120. Munita, J. M. Mechanisms of Antibiotic Resistance / J. M. Munita, C. A. Arias // *Microbiol. Spectr.* – 2016. – Vol. 4, № 2. doi:10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015
121. Oral microbiota in human systematic diseases / X. Peng, L. Cheng, Y. You [et al.] // *Int. J. Oral Sci.* – 2022. – Vol. 14, № 1. – P. 14. doi: 10.1038/s41368-022-00163-7
122. Oral microbiome and health / N. Sharma, S. Bhatia, A. S. Sodhi, N. Batra // *AIMS Microbiol.* – 2018. – Vol. 4, № 1. – P. 42-66. doi: 10.3934/microbiol.2018.1.42
123. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body / L. Gao, T. Xu, G. Huang [et al.] // *Protein Cell.* – 2018. – Vol. 9, № 5. – P. 488-500. doi: 10.1007/s13238-018-0548-1
124. Periodontitis in US Adults: National Health and Nutrition Examination Survey 2009–2014 / P. I. Eke, G. O. Thornton-Evans, L. Wei [et al.] // *J. Am. Dent. Assoc.* – 2018. – Vol. 149. – P. 576-588.
125. Persistent bacterial colonization of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in periodontitis and its

- association with alveolar bone loss after 6 months of therapy / E. S. Chaves, M. K. Jeffcoat, C. C. Ryerson, B. Snyder // *J. Clin. Periodontol.* – 2000. – Vol. 27. – P. 897–903.
126. *Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen overview / J. Mysak, S. Podzimek, P. Sommerova [et al.] // *J. Immunol. Res.* – 2014. – Vol. 2014. – Art. 476068. doi: 10.1155/2014/476068
127. Probiotics as oral health biotherapeutics / S. Saha, C. Tomaro-Duchesneau, M. Tabrizian, S. Prakash // *Expert Opin. Biol. Ther.* – 2012. – Vol. 12, № 9. – P. 1207-1220. doi: 10.1517/14712598.2012.693474
128. Regulation of ICAM-1 expression in gingival fibroblasts infected with high-glucose-treated *P. gingivalis* / L. C. Chang, H. C. Kuo, S. F. Chang [et al.] // *Cell Microbiol.* – 2013. – Vol. 15, № 10. – P. 1722-1734. doi: 10.1111/cmi.12146
129. Role of interleukin-1 and inflammasomes in oral disease / T. Murakami, Y. Takahata, K. Hata [et al.] // *J. Oral Biosci.* – 2020. – Vol. 62, № 3. – P. 242-248. doi: 10.1016/j.job.2020.07.003
130. Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its virulence factors in periodontitis / W. Xu, W. Zhou, H. Wang [et al.] // *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* – 2020. – Vol. 120. – P. 45-84. doi: 10.1016/bs.apcsb.2019.12.001
131. *Rudney, J. D. Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, and Tannerella forsythensis are components of a polymicrobial intracellular flora within human buccal cells / J. D. Rudney, R. Chen, G. J. Sedgewick // J. Dent. Res.* – 2005. – Vol. 84, № 1. – P. 59-63. doi: 10.1177/154405910508400110
132. *Streptococcus salivarius* inhibits immune activation by periodontal disease pathogens / K. W. MacDonald, R. M. Chanyi, J. M. Macklaim [et al.] // *BMC Oral Health.* – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 245. doi: 10.1186/s12903-021-01606-z
133. Tanday, S. Resisting the use of antibiotics for viral infections / S. Tanday // *Lancet Respir Med.* – 2016. – Vol. 4, № 3. – P. 179. doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(16\)00060-6](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(16)00060-6)
134. The human oral microbiome / F. E. Dewhirst, T. Chen, J. Izard [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2010. – Vol. 192, № 19. – P. 5002-5017. doi: 10.1128/JB.00542-10

135. The microbiome of potentially malignant oral leukoplakia exhibits enrichment for *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Campylobacter*, and *Rothia* species/ A. Amer, S. Galvin, C. M. Healy, G. P. Moran // *Front. Microbiol.* – 2017. – № 8. – P. 2391-2400.
136. Torrungruang, K. *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Treponema denticola* / *Prevotella intermedia* Co-Infection Are Associated with Severe Periodontitis in a Thai Population / Torrungruang K., Jitpakdeebordin S., Charatkulangkun O., Gleebbua Y. // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 8. doi: 10.1371/journal.pone.0136646.
137. Yaegashi, Y. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis. / Yaegashi, Y. Shirakawa K., Sato N. [et al.] // *J. Infect. Chemother.* – 2005. Vol. 11, № 5. P. 234-242. DOI: 10.1007/s10156-005-0400-4.
138. Yamashita, Y. The oral microbiome and human health / Y. Yamashita, T. Takeshita // *J Oral Sci.* – 2017. – Vol. 59, № 2. – P. 201-206. doi: 10.2334/josnugd.16-0856
139. Ytreland, K. J. Antibiotic use and antibiotic resistance in dental practice : master thesis in odontology / K. J. Ytreland. – Tromso, 2016. – 34 p.
140. Zarco, M. F. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine / M. F. Zarco, T. J. Vess, G. S. Ginsburg // *Oral Dis.* – 2012. – Vol. 18, № 2. – P. 109-120.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2808191**СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО
ПАРОДОНТИТА**

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Северный государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Галиева Александра Сергеевна (RU), Давидович Наталия Валерьевна (RU), Оправин Александр Сергеевич (RU), Бажукова Татьяна Александровна (RU), Кукалевская Наталья Николаевна (RU), Башилова Елена Николаевна (RU), Давыдова Надежда Геннадьевна (RU), Левицкий Сергей Николаевич (RU)*

Заявка № **2023100456**

Приоритет изобретения **10 января 2023 г.**

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **24 ноября 2023 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **10 января 2043 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Ю.С. Зубов

