

На правах рукописи

Катханова Лилия Султановна

**ПЕРСПЕКТИВЫ ПРЕДИКТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА**

3.1.7. Стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Саратов-2025

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

Научный руководитель

доктор медицинских наук, доцент **Еремин Олег Вячеславович**

Официальные оппоненты:

Фирсова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, профессор; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; кафедра терапевтической стоматологии; заведующая кафедрой;

Беленова Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; кафедра подготовки кадров высшей квалификации в стоматологии; заведующая кафедрой

Ведущая организация:

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

Защита состоится «___» _____ 2025 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 21.2.066.02 при ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Б. Казачья, д. 112

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной научной библиотеке по адресу: г. Саратов, ул. 53-й Стрелковой Дивизии, 6/9, к. 5 и на сайте (<http://science.sgmtu.ru/council/21206603>) ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Л.В. Музурова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Ключевым медицинским и социальным направлением развития научных исследований является создание к 2025 г. новых высокоэффективных диагностических методов, тест-систем и комплексов, ориентированных на выявление дебюта социально значимых заболеваний. В полной мере это относится к предикторной диагностике хронических воспалительных заболеваний пародонта (PD). Данная патология приводит к потере зубов у лиц трудоспособного возраста, стойким изменениям в жевательном аппарате, нарушениям в деятельности желудочно-кишечного тракта, что снижает качество жизни пациентов и ведет к росту финансовых затрат на медицинское обслуживание.

В развитии PD важная роль отводится состоянию иммунной системы тканей полости рта [Дзюба Е.В. и др., 2019]. Изменение её активности сопровождается нарушением функционирования защитных механизмов на уровне зубодесневого соединения. Трансформация воспалительного процесса в пародонте в хронический влечет за собой реорганизацию цитокинового профиля. Возникающие разнонаправленные изменения цитокинов вызывают нарушения в цитокиновой сети пародонтального комплекса, что обуславливает неадекватную регенерацию, редукцию десны и убыль альвеолярной костной ткани [Юдина Н.А. и др., 2021; Williams D.W. et al., 2021]. Одним из возможных объективных критериев качества предикторной диагностики хронических гингивита (ГХ) и пародонтита (ПХГ) может быть изменение содержания в сулькулярной жидкости (GSF) молекулярных маркеров, отражающих состояния тканей пародонта. Среди них: про- и противовоспалительные цитокины – интерлейкины (IL) 1 β , 6, 8, 10, 1RA, фактор некроза опухоли α (TNF- α), интерферон γ (IFN- γ), моноцитарный хемоаттрактантный белок – 1 (MCP-1) и факторы ангиогенеза – сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) [Bezirci D. et al., 2024; Firatli Y. et al., 2023]. По этой причине считается целесообразным изучение корреляции

показателей провоспалительного потенциала сулькулярной жидкости, а также маркеров ангиогенеза с клиническими изменениями в пародонте при его воспалительных заболеваниях.

Степень разработанности темы исследования

Воспалительные заболевания пародонта представляют собой очаг хронической оральной инфекции. Неблагоприятное влияние ПХГ на общее здоровье изучалось врачами-исследователями различных специальностей [Еремин А.В. и др., 2020; Kim J-W. et al., 2022]. Европейская федерация пародонтологов, Американская академия пародонтологов и Американская ассоциация кардиологов в 2013 г. представили основные положения вероятного сценария влияния пародонтита на формирование и течение различных системных заболеваний. Ряд проведенных клинических исследований продемонстрировали положительное влияние пародонтологического лечения на уровень системного воспаления в организме.

Однако на начальных стадиях как ГХ, так и ПХГ часто характеризуются латентным течением, что осложняет своевременную диагностику и, значит, отдалает начало адекватных лечебных и поддерживающих процедур. Таким образом, PD, являясь интегративной медицинской и социальной проблемой, требуют разработки методик ранней диагностики данной патологии.

В десневом желобке разворачивается воспалительный процесс за счет микробной интервенции, поэтому сулькулярная жидкость максимально точно и быстро отражает изменения клеточного состава, белкового спектра, кислотности среды при патологических состояниях [Янушевич О.О. и др., 2019].

Иммунные локальные реакции, формирующиеся под влиянием пародонтопатогенов, лежат в основе развития PD. Установлен факт изменения уровня цитокинов при патологии пародонта в GSF, что позволяет

оценить результат проведенной терапии, прогнозировать течение заболевания [Успенская О.А. и др., 2024; Скубицкая А.Г. и др., 2021].

Ряд исследователей предпринимали усилия для поиска надежных предикторов, которые позволили бы верифицировать заболевание на ранних этапах [Миронычева К.С., 2019; Тихомирова Е.А. и др., 2020]. Это дает возможность выделения групп риска при профилактических осмотрах, а также получения максимального эффекта от профилактических мероприятий.

В научных работах в качестве прогностических факторов в основном предлагаются отдельные провоспалительные и остеотропные маркеры [Гуйтер Щ.С. и др., 2023; Давыдов Б.Н. и др., 2023; Мартынова М.И. и др., 2024]. На данный момент не существует комбинированной панели диагностических биомаркеров в GSF с высоким диагностическим потенциалом сопряженного действия для ранней диагностики пародонтита в клинических условиях.

Цель исследования

Повышение эффективности ранней диагностики хронических воспалительных заболеваний пародонта на основе анализа данных предложенной панели цитокинов (интерлейкинов 1 β , 6, 8, 17, 1RA, моноцитарного хемоаттрактантного белка – 1, фактора некроза опухоли α , сосудистого эндотелиального фактора роста) в сулькулярной жидкости.

Задачи исследования:

1. Оптимизировать методику забора сулькулярной жидкости для проведения иммуноферментного анализа у лиц с клинически здоровым пародонтом, у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта.
2. Определить уровень биомаркеров предложенной панели (интерлейкинов 1 β , 6, 8, 17, 1RA, моноцитарного хемоаттрактантного белка – 1, фактора некроза опухоли α , сосудистого эндотелиального фактора роста) в сулькулярной жидкости у пациентов в зависимости от тяжести поражения пародонтального комплекса.

3. Выделить предикторы прогрессирования тяжести течения воспалительного процесса в пародонте с помощью Receiver operating characteristic-анализа (ROC), определив их пороговые значения.
4. Разработать математическую модель индивидуального прогноза формирования пародонтита и программу для электронно-вычислительной машины, персонализированно оценивающую степень разрушения тканей пародонтального комплекса у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта.

Научная новизна

Усовершенствована лабораторная методика идентификации цитокинов в сулькулярной жидкости для обследования пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта. Добавление к транспортному раствору хлорида натрия консерванта ProClin 300 повышает эффективность количественного определения цитокинов в GSF ($p < 0,05$).

Предложена панель биомаркеров сопряженного действия (IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- α , IL-17, IL-1RA, VEGF) для ранней диагностики ГХ и ПХГ.

Впервые среди представленного комплекса цитокинов выявлены предикторы, оказывающие влияние на развитие воспалительно-деструктивных процессов в пародонте с учетом тяжести течения. Определение уровня VEGF, IL-6, IL-1 β в GSF перспективно для прогнозирования гингивита у лиц с практически здоровым пародонтом; MCP-1, VEGF, TNF- α – пародонтита легкой степени тяжести у пациентов с гингивитом. Рассчитаны пороговые значения выделенных предикторов.

Впервые рассчитана прогнозная модель, определяющая риск развития хронического генерализованного пародонтита на основе значений MCP-1, TNF- α в сулькулярной жидкости и пародонтального индекса Russel.

Впервые предлагается точный и информативный метод диагностики воспалительных заболеваний пародонта с учетом состояния цитокинового

профиля GSF с помощью программы для электронно-вычислительной машины (ЭВМ).

Теоретическая и практическая значимость

1. На основе доказательной медицины теоретически обоснована роль цитокинового комплекса (IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- α , IL-17, IL-1RA, VEGF) в патогенезе деструктивно-воспалительных изменений в тканях пародонтального комплекса.

2. Проведенное иммунологическое исследование выявило диагностически значимые показатели GSF для прогрессирования гингивита и пародонтита у обследованных лиц.

3. Выделенные предикторы могут быть использованы для разработки диагностических тест-систем при иммуноферментном анализе (ИФА).

4. С помощью логистического регрессионного моделирования создана прогностическая модель риска прогнозирования хронического пародонтита у пациентов на доклинической стадии на основе значения уровня в GSF TNF- α и MCP-1, а также пародонтального индекса Руссела (PI Russel).

5. На основе клинических показателей и состояния цитокинового профиля GSF разработана программа для ЭВМ с целью диагностики хронических воспалительных заболеваний пародонта, которая позволит повысить качество диагностических, профилактических и лечебных мероприятий у пациентов, обращающихся за стоматологической помощью.

Методология и методы исследования

Методология исследования построена на основе анализа научных работ, размещенных в электронных базах данных по изучаемой теме, комплексного подхода к проведенному исследованию, нормативных документов Стоматологической Ассоциации России (СтАР) и Минздрава России. Работа выполнена в дизайне одноцентрового поперечного исследования. Были обследованы: 71 пациент с ГХ и ПХГ легкой и средней степени тяжести 21–55 лет, а также 30 здоровых человек, соответствующих критериям включения и не имеющих критериев исключения. В работе

реализованы клинические и рентгенологические методы исследования пародонтального комплекса, а также иммунологические – крови и GSF. Для достижения цели исследования обследованные были разделены на группы в зависимости от нозологии. Выбраны современные математические методы обработки полученных данных, соответствующие поставленным задачам.

Положения, выносимые на защиту:

1. Способ забора и хранения GSF влияет на результаты лабораторных исследований.
2. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что подъем содержания группы медиаторов (IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1, VEGF, TNF- α) в GCF связан с клиническими проявлениями воспалительно-деструктивных изменений в пародонтальном комплексе.
3. Анализ уровня MCP-1, VEGF и провоспалительного цитокина TNF- α перспективен для прогнозирования формирования пародонтита у лиц, страдающих хроническим гингивитом.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 3.1.7. «Стоматология», области исследования согласно п. 2 «Изучение этиологии, патогенеза, эпидемиологии, методов профилактики, диагностики и лечения заболеваний пародонта» и п. 10 «Разработка цифровых технологий в стоматологии».

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Научное исследование выполнено в рамках внутреннего гранта «Проект перспективного научного исследования №SSMU-2021-007».

Основные положения диссертационного исследования обсуждены на совместном заседании кафедр стоматологического профиля и кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России (протокол № 2 от 04.03.2025 г.).

Результаты научного исследования представлены на V Международной молодежной конференции «Молодежь и XXI век – 2015» (Курск, 2015), Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы стоматологии» (Казань, 2017), симпозиуме «Профилактика стоматологических заболеваний» в рамках XLVII Всероссийской научно-практической конференции СТАР «Стоматология XXI века» (Москва, 2022), 20-й региональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы диагностики, лечения и реабилитации больных в условиях новой коронавирусной инфекции» (Пенза, 2020), VIII Всероссийском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2022), 71-й Всероссийской научной конференции молодых ученых и студентов с международным участием (Махачкала, 2023), 10-м Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2024).

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены в преподавательскую деятельность кафедр стоматологии терапевтической (дисциплина «пародонтология») и пропедевтики стоматологических заболеваний (практические занятия с ординаторами по направлению «стоматология общей практики») ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России. В лечебно-профилактическую работу ГБУЗ ЦРБ Зольского муниципального района, врачебной амбулатории с. Малка (Кабардино-Балкарская Республика) и отделения терапевтической стоматологии № 2 консультативной стоматологической поликлиники УКБ № 1 им. С.Р. Миротворцева ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

Публикации

Результаты научного исследования изложены в 18 работах, из них 6 – в журналах, входящих в перечень рекомендованных Высшей аттестационной комиссией РФ, 2 – в изданиях, индексируемых в международной цитатно-аналитической базе данных Web of Science. Получен один патент РФ на

изобретение (№2595804). Зарегистрирована программа для ЭВМ, предназначенная для персонализированной оценки тяжести поражения тканей пародонтального комплекса у пациентов с РД на основе результатов клинического обследования и исследования содержания медиаторов иммунорегуляторных процессов в GSF.

Структура и объем работы

Материалы диссертационного исследования изложены традиционно, представлены на 124 страницах компьютерного текста, включают 19 таблиц, 26 рисунков, приложения. Собственные исследования освещены в трех главах. Список использованной литературы содержит 141 источник, из которых 49 отечественных и 92 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Был обследован 71 пациент с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта, обратившийся за стоматологической помощью в ГБУЗ ЦРБ Зольского муниципального района, врачебную амбулаторию с. Малка (Кабардино-Балкарская Республика) и консультативную стоматологическую поликлинику УКБ № 1 им. С.Р. Миротворцева ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

В исследование включались пациенты по следующим критериям: возраст от 21 до 55 лет; оба пола; диагноз К 05.10, К 05.31 легкой и средней степеней тяжести; подписавшие информированное согласие.

Критерии невключения пациентов в исследование: К 05.31 тяжелой степени; К 05.0; К 05.11; К 05.12; К 05.4; К 05.5. Из исследования исключались больные со следующими стоматологическими диагнозами: К 07 и К 08.1; ряд соматических патологий (сахарный диабет, заболевания с декомпенсированным течением, онкологическая патология; инфекционные заболевания – ВИЧ, туберкулез); больные, отказавшиеся от обследования.

I группа представлена 22 больными (10 мужчин и 12 женщин) с диагнозом К 05.10 (ХГ генерализованный катаральный); II группа – 31 пациентом (12 мужчин и 19 женщин) с диагнозом К 05.31 (ПХГ легкой степени тяжести), III группа – 18 пациентами (9 мужчин и 9 женщин) с диагнозом К 05.31 (ПХГ средней степени тяжести). Группа сравнения состояла из 30 обследованных (14 мужчин и 16 женщин) с клинически здоровым пародонтом. Группы обследованных пациентов были сопоставимы по полу и возрасту. Клинический диагноз выставлялся на основании классификации заболеваний пародонта (1983 г.) с изменениями 2001 г., а также МКБ-С-3.

У пациентов изучен пародонтальный статус согласно классическому протоколу обследования (индексы ОНI-s, РВI, РМА, РI). Определена цитокиновая панель сыворотки крови и GSF (про- и противовоспалительные цитокины, факторы ангиогенеза) с помощью твердофазного ИФА. Результаты выражали в пг/мл $\times 10^3$.

Сулькулярная жидкость содержит факультативную и облигатную анаэробную микрофлору, генерирующую факторы разрушения клеток, молекул цитокинов, что влияет на полученные результаты и приводит к неправильной интерпретации лабораторных данных. Для удаления микрофлоры в GSF нами была модифицирована и апробирована методика сбора и хранения этой жидкости. Было решено добавить в транспортную среду (1000 мкл 0,155 М раствор хлорида натрия) консервант с антимикробной активностью ProClin 300. В концентрации 0,2% данный препарат уничтожает бактерии и грибы в биоматериале, не влияя на функциональность большинства реакций, связанных с ферментами, антителами, белками и пептидами. Указанный консервант относится к группе водорастворимых, что позволяет добавлять его в реагенты.

Взятие проб содержимого зубодесневой борозды / пародонтального кармана проводили после очищения зубов от зубного налета и аккуратного снятия наддесневых зубных отложений. Зубы изолировали от слюны с

помощью ретрактора, DryTips и высушивали. Биоматериал получали с помощью специальных мишеней в виде бумажных эндодонтических штифтов (ISO.02, № 25). При аналитическом взвешивании 30 бумажных пинов, введенных в десневые / пародонтальные карманы и выдержанных до полного пропитывания, установлено, что среднее количество сорбируемой ими десневой жидкости составляет $5,0 \pm 0,05$ мг. Объем GSF определяли по разнице в весе бумажного штифта до и после пропитывания. Два штифта с помощью пакера и пинцета поочередно укладывали в десневую борозду / пародонтальный карман с вестибулярной стороны от медиально-контактной до дистально-контактной поверхностей в области двух репрезентативных зубов (1.6, 2.1) на 1–1,5 мин. За указанный временной интервал сорбируется практически весь объем жидкости из десневой борозды / пародонтального кармана. Загрязненные кровью образцы в исследование не включались. Полученные пробы замораживали и хранили в медицинском морозильнике «Бирюса MedLine» (Россия) при температуре -40° до проведения исследования.

На рисунке 1 представлена схема проведенного клинико-лабораторного исследования.

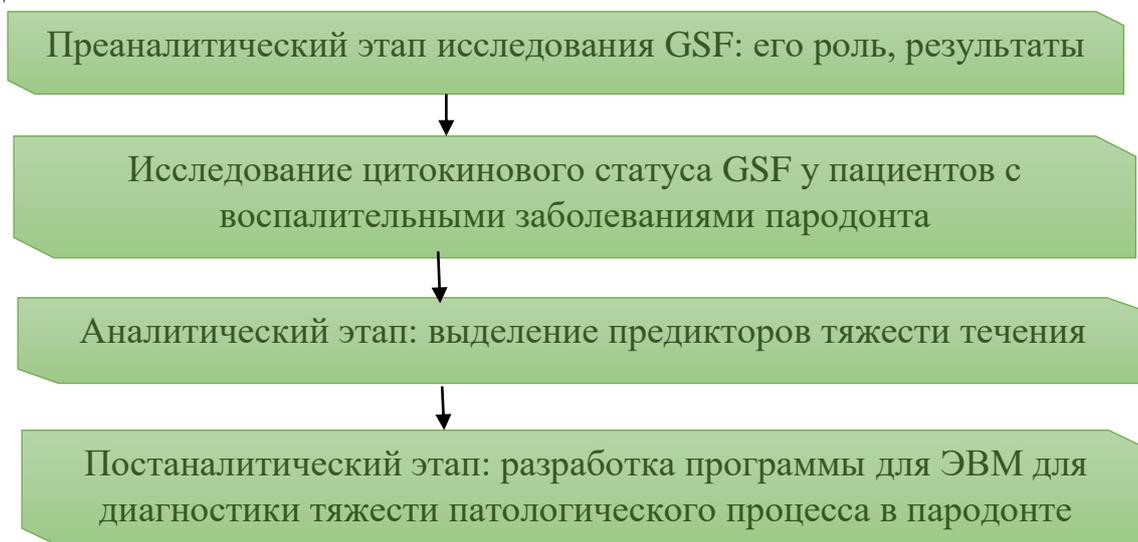


Рисунок 1 – Схема клинико-лабораторного исследования

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10 и надстройки Stat Research Excel. Проведен ROC-анализ при разделении пар групп. Для прогнозирования ключевых показателей применялся метод логистической регрессии. С целью

построения модели прогнозирования воспалительного процесса использовался дискриминантный анализ. Кроме того, для оценки статистической значимости каждого фактора рассчитывался уровень P на основе критерия Вальда.

Результаты исследования

Влияние среды хранения и транспортировки сулькулярной жидкости на результаты твердофазного иммуноферментного анализа.

У 20 пациентов с ПХГ и 20 пациентов с клинически здоровым пародонтом мы собрали GSF одновременно двукратно в две пробирки типа Eppendorf. В одной из них содержалось 1000 мкл 0,155 М раствора хлорида натрия, в другой – 0,2% биоцид ProClin 300.

В транспортной среде, содержащей 0,2% ProClin 300, уровень провоспалительных цитокинов был существенно выше как у лиц с клинически здоровым пародонтом, так и у больных ПХГ. Содержание IL-1 β в GSF в группе пациентов, страдающих ПХГ, увеличилось в 1,8 ($p < 0,05$), MCP-1 – в 2,35 раза ($p < 0,05$). Подъем уровня IL-1RA не имел достоверных различий. Следовательно, данная транспортная среда в меньшей степени влияла на уровень провоспалительного цитокина (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние состава раствора для транспортировки и хранения GSF на содержание исследованных иммунорегуляторных маркеров

Показатели (пг/мл $\times 10^3$ среды разведения)	Лица с клинически здоровым пародонтом		Больные с ХПГ легкой степени тяжести	
	раствор хлорида натрия	раствор хлорида натрия и биоцида	раствор хлорида натрия	раствор хлорида натрия и биоцида
IL-1 β	3,1 [1,2;5,4]	4,9 [2,7;5,4]*	10,8 [6,3;15,2] [#]	19,6 [11,6;23,6]* [#]
MCP-1	17,3 [17,9;21,4]	28,2 [21,2;34,4]*	46,9 [39,3;59,8] [#]	110 [84,1;135,7]* [#]
IL-1RA	2139,5 [1897,2;2442,8]	3724,7 [2900;4303]*	1928 [946;2403]	1940 [1559,7;375] [#]

Примечание: Данные приводятся как Me [Q₁; Q₃], где Me – медиана, [Q₁; Q₃] – межквартильный размах; * – $p < 0,05$ при сопоставлении данных анализа цитокинов в GSF с различными разводящими растворами; [#] – $p < 0,05$ при сопоставлении уровня цитокинов в GSF у лиц с клинически здоровым пародонтом и больных с ПХГ легкой степени.

У пациентов с клинически здоровым пародонтом концентрация IL-1 β и MCP-1 возросла в 1,6 раза ($p < 0,05$), IL-1RA – в 1,7 ($p < 0,05$).

Таким образом, применение среды, содержащей ProClin 300, для хранения и транспортировки собранной GSF повышает эффективность количественного определения в ней цитокинов.

Уровни биомаркеров в различных средах организма у стоматологических пациентов. На основе разработанной методики забора и хранения биоматериала был изучен общий и местный иммунный статус и выделены предикторы воспалительного процесса в пародонте на основании изучения содержания в GSF интерлейкинов / хемокинов, факторов роста.

Результаты собственных исследований показали, что суммарная концентрация IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, TNF- α и IFN- γ в GSF (104 880 пг/мл) в 2386 раз превышает их суммарную концентрацию в сыворотке крови (43,95 пг/мл) у лиц с практически здоровым пародонтом ($p < 0,05$). Таким образом, содержание цитокинов в слюне не корректирует с их уровнем в крови, что указывает на определенную автономность местного иммунитета полости рта.

Оценка цитокинового статуса сулькулярной жидкости и его взаимосвязи с клиническими параметрами. Определена прямая связь нарастания содержания провоспалительных цитокинов / хемокинов с тяжестью клинических проявлений воспалительного процесса. Так, характерной особенностью развития воспалительного процесса при гингивите становится подъем в GSF от величин в группе сравнения таких провоспалительных медиаторов, как IL-1 β (в 2,1 раза), IL-6 (в 17,1), IL-8 (в 1,3), IL-17 (в 2,4). Подъем их на фоне увеличения VEGF (в 2,7) и снижение уровня IL-1RA (в 1,2) в GSF у пациентов в группах с гингивитом свидетельствовал о нарушении баланса иммунорегуляции в тканях пародонта, прежде всего на уровне иммуноэпителиальной выстилки. У пациентов с пародонтитом легкой и средней степени тяжести дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов в GSF нарастал. Экспрессия

содержания в GSF от величин в группе сравнения TNF- α (в 4,2–8,8 раз), IL-1 β (в 4–3,3), IL-6 (в 24,7–55,3), IL-8 (в 2,2–4,3), MCP-1 (в 3,9–8,6), IL-17 (в 2,8–3,8) развивалась на фоне снижения уровня IL-1RA (до 0,52–0,62) соответственно.

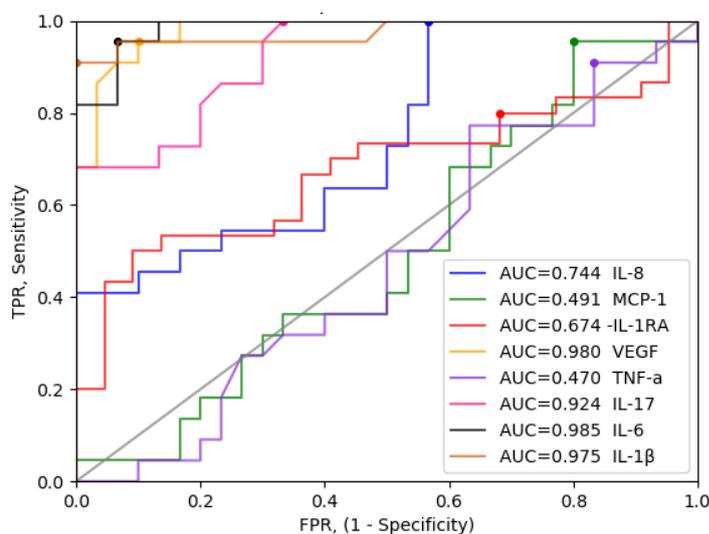
При высоком содержании провоспалительных цитокинов / хемокинов нарастал уровень VEGF (в 3,6–3,56) и значимо изменялись пародонтальные индексы, прежде всего рос PI (в 3,6 и 5,3 раза по сравнению с величиной у пациентов с гингивитом, $p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, усиление дисбаланса про- и противовоспалительных медиаторов и повышение концентрации VEGF у пациентов с PD связаны с развитием деструктивных процессов в пародонтальном комплексе.

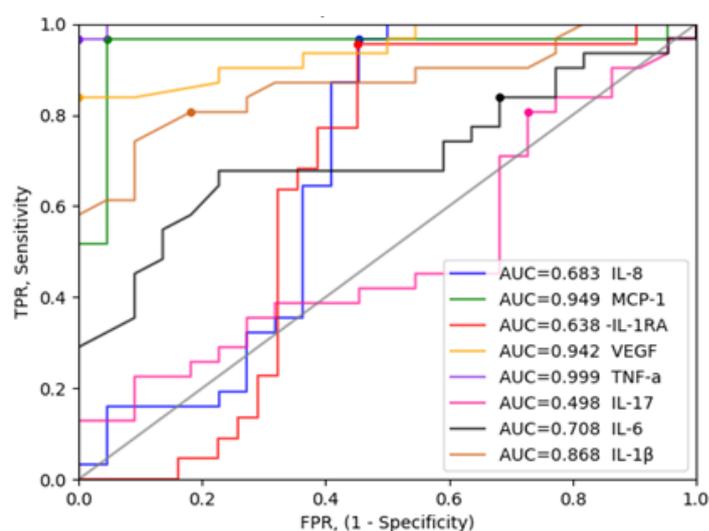
Выделение предикторов воспалительного процесса в пародонте.

Анализ ROC-кривых показал, что подъем содержания группы медиаторов в GSF связан с клиническими проявлениями воспалительно-деструктивных изменений. При начальном воспалительном процессе в пародонте, не связанном с нарушением эпителиального прикрепления, наибольшее диагностическое значение имеет высокий уровень в GSF биомаркеров: VEGF, IL-1 β , IL-6. Оптимальные пороговые значения для IL-1 β – 6,3 пг/мл, VEGF – 15,8 пг/мл, IL-6 – 1,34 пг/мл в GSF позволяют дифференцировать больных гингивитом и лиц с практически здоровым пародонтом. Area Under Curve (AUC) при гингивите – 0,975; 0,985; 0,98 соответственно (рисунок 2А).

При развитии остеодеструктивных изменений в пародонтальном комплексе отмечается амплификация противовоспалительных VEGF, IL-1 β , IL-8, MCP-1, TNF- α , IL-6. Подъем уровня VEGF свыше 30,6 пг/мл, MCP-1 – 52,4 пг/мл, IL-1 β – 11,4 пг/мл, TNF- α – 2,64 пг/мл сопряжен с такими клиническими признаками, как формирование пародонтальных карманов, экспрессия значений пародонтального индекса по Russel, и, следовательно, трансформации ХГ в ПХГ. При пародонтите легкой степени AUC – 0,999; 0,949; 0,942 соответственно (рисунок 2Б).



А



Б

Рисунок 2 – ROC-кривые, характеризующие зависимость тяжести поражения пародонтального комплекса от значений концентрации биомаркеров в десневой жидкости: 2А – ROC-кривые группы сравнения и пациентов с ГХ; 2Б – ROC-кривые пациентов с ГХ и ПХГ легкой степени тяжести

Прогнозирование риска развития хронического генерализованного пародонтита. Процедура оценки риска проводилась на основе полученных в ходе исследования статистических данных с помощью математического моделирования.

Однофакторный анализ рисков показателя «Пародонтит» позволил выделить три ключевых статистически значимых фактора развития риска пародонтита. К ним относятся $TNF-a \geq 2,6$, $MCP-1 \geq 52,4$ и $VEGF \geq 29,8$ с уровнями абсолютного риска более 92,3%. Наличие одного из трех ключевых

факторов повышает уровень риска формирования пародонтита более чем в 5,7 раза. Из представленных моделей лучшей является TNF-а $\geq 2,6$ (AUC ROC = 0,99).

Для формирования прогноза развития пародонтита у пациентов, страдающих ГХ, также было применено логистическое регрессионное моделирование. На основе пошагового метода включения факторов для целевого показателя «Пародонтит» была построена логистическая регрессионная модель с тремя факторами. В нее вошли следующие предикторы: PI, MCP-1, TNF-а в качестве персонализированных индикаторов прогноза заболевания. Разработанная математическая модель выглядит следующим образом:

$$\text{Риск} = \frac{1}{(1+e^{-(-27,669 + 7,508 * PI + 3,573 * TNF-a + 0,034 * MCP-1)})},$$

где e – математическая константа, равная 2,71828 (число Эйлера),
 PI – пародонтальный индекс Руссела,
 TNF-а – фактор некроза опухоли альфа,
 MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактантный белок.

Следующим этапом исследования для дифференциальной диагностики трех состояний – клинического здоровья пародонтального комплекса, гингивита и пародонтита – был проведен дискриминантный анализ, на основании которого построена модель тяжести воспалительного процесса у пациентов:

$$\text{Корень 1} = -2,7373 * \text{ОИ-s} - 0,0897 * \text{VEGF} - 0,2211 * \text{TNF-a} - 0,1123 * \text{IL-1}\beta + 0,0597 + \text{IL-6} + 0,0036 * \text{MCP-1} - 0,0040 * \text{IL-8} + 0,0048 * \text{IL-17} + 10,9282$$

$$\text{Корень 2} = 2,9524 * \text{ОИ-s} - 0,0080 * \text{VEGF} - 0,3233 * \text{TNF-a} - 0,0806 * \text{IL-1}\beta + 0,2936 + \text{IL-6} - 0,0121 * \text{MCP-1} + 0,0050 * \text{IL-8} + 0,0317 * \text{IL-17} - 4,2066.$$

При подставлении в данные формулы новых значений факторов, полученных при обследовании пациента, можно проводить его

дифференциацию в одну из клинических групп на основании следующих результатов:

если Корень $1 \geq 3$, то у пациента можно диагностировать клинически здоровый пародонт;

если Корень $1 < 3$ и выполняется одно из условий: Корень $1 > 0$, а Корень $2 > 1,5$, то у пациента диагностируется хронический гингивит;

если Корень $1 < 0$ и Корень $2 < 1,5$, то у пациента диагностируется хронический пародонтит.

Практическое воплощение математической модели прогноза было реализовано путем создания программы для ЭВМ для персонализированной оценки тяжести поражения тканей пародонтального комплекса у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта (свидетельство о регистрации программы для ЭВМ 2022685089 от 21.12.2022 г.). Задача разработанной программы для ЭВМ: на основе полученных клинико-лабораторных данных пациента верифицировать патологию пародонта.

Программа дает возможность:

1. Создать базу данных для динамического наблюдения пациентов с РД.
2. Сформировать накопительную базу данных для последующих научных исследований по оценке прогрессирования и / или рецидивов заболевания в зависимости от проведенного лечения.
3. Разработать практические рекомендации по профилактике ПХГ.

Применение разработанной программы в сочетании с количественной оценкой предикторов заболевания даст возможность врачу-стоматологу не только оценить пародонтологический статус пациента на момент обращения, но и составить план лечения и диспансерного наблюдения с учетом риска развития более тяжелой патологии в соответствии с Клиническими рекомендациями СТАР. Данная тактика позволит реализовать персонализированный подход к пациенту согласно современной концепции 5П-медицины.

ВЫВОДЫ:

1. В лабораторных условиях оптимизирована методика забора, транспортировки и хранения сулькулярной жидкости с добавлением ProClin 300 у лиц с клинически здоровым пародонтом, а также у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта. Добавление к транспортному раствору хлорида натрия консерванта ProClin 300 повышает эффективность количественного определения цитокинов в сулькулярной жидкости. У пациентов с клинически здоровым пародонтом концентрация IL-1 β и MCP-1 возросла в 1,6 раза (3,1 [1,2; 5,4] vs 4,9 [2,7; 5,4], 17,3 [17,9; 21,4] vs 28,2 [21,2; 34,4] соответственно, $p < 0,05$), IL-1RA – в 1,7 раза (2139,5 [1897,2; 2442,8] vs 3724,7 [2900; 4303], $p < 0,05$). Содержание IL-1 β в сулькулярной жидкости в группе пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом, увеличилось в 1,8 раза (10,8 [6,3; 15,2] vs 19,6 [11,6; 23,6], $p < 0,05$), MCP-1 – в 2,35 раза (46,9 [39,3; 59,8] vs 110 [84,1; 135,7], $p < 0,05$), по уровню IL-1RA достоверных различий не получено.

2. У пациентов с гингивитом концентрация биомаркеров предложенной панели ниже, чем у пациентов с пародонтитом, за исключением противовоспалительного IL-1RA. Медианные значения при гингивите составили: IL-1 β 10,3 [9,6; 11,0], IL-6 2,9 [1,7; 3,4], IL-8 75,7 [55,9; 189,7], MCP-1 26,7 [21,5; 31,7], TNF- α 1,5 [1,4; 1,9], IL-17 18,1 [12,6; 21,0], VEGF 25,1 [18,9; 27,8], IL-1RA 3065 [2772,0; 3478,0] пг/мл. Медианные значения при ПХГ легкой степени тяжести этих показателей поднимались до более высокого уровня: IL-1 β 19,6 [11,6; 23,6], IL-6 4,2 [2,1; 5,6], IL-8 122,4 [95,3; 173,0], MCP-1 110,0 [84,1; 135,7], TNF- α 6,7 [4,5; 8,9], IL-17 15,5 [12,8; 22,1], VEGF 34,5 [30,9; 42,7] пг/мл, а уровень IL-1RA снижался, составив 1940 [1559,7; 3750,0] пг/мл ($p < 0,05$). При пародонтите средней степени тяжести медианные значения указанных биомаркеров сохраняли вектор изменений: IL-6 9,4 [8,1; 11,3], IL-8 248,2

[213,0; 312,7], MCP-1 242,5 [199,1; 265,7], TNF- α 13,9 [12,8; 14,9], IL-17 28,4 [26,6; 33,7], в том числе и IL-1RA 2306,2 [1506,0; 2759,0] пг/мл ($p < 0,05$). Уровни VEGF 33,6 [27,8; 38,0] и IL-1 β 16,2 [13,6; 20,1], напротив, имели тенденцию к снижению.

3. Рассчитаны оптимальные пороговые значения биомаркеров в сулькулярной жидкости, при превышении которых прогнозируется риск формирования гингивита у лиц с практически здоровым пародонтом: IL-1 β – 6,3 пг/мл, VEGF – 15,8 пг/мл, IL-6 – 1,34 пг/мл. Подъем уровней VEGF свыше 30,6 пг/мл, MCP-1 – 52,4 пг/мл, IL-1 β – 11,4 пг/мл, TNF- α – 2,64 пг/мл свидетельствует о деструктивных процессах в тканях пародонтального комплекса и высокой вероятности риска развития пародонтита легкой степени тяжести (биомаркеры показывают чувствительность и специфичность от 1,8 до 1,96). Данные показатели выделены как предикторы течения воспалительного процесса в тканях пародонтального комплекса и могут использоваться в качестве дополнительного диагностического критерия.

4. Разработана математическая модель прогнозирования риска развития пародонтита на основании концентрации TNF- α , MCP-1 в сулькулярной жидкости и величины пародонтального индекса Russel. Разработана программа для ЭВМ для персонализированной оценки тяжести поражения тканей пародонтального комплекса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения качества диагностических исследований цитокинов в сулькулярной жидкости рекомендуется вводить в транспортный раствор, содержащий 0,155 М раствор хлорида натрия, биоцид ProClin 300.
2. Для повышения эффективности ранней диагностики хронического гингивита и пародонтита легкой степени тяжести рекомендуется использовать выделенные предикторы (IL-1 β , VEGF, IL-6, MCP-1, TNF- α), определяемые в сулькулярной жидкости.

3. Внедрение в клиническую практику разработанной математической модели, включающей лабораторные показатели TNF- α , MCP-1, а также клинический пародонтальный индекс Russel, позволит стоматологам оценить риск развития пародонтита у пациентов с хроническим гингивитом. Разработанную программу для ЭВМ можно использовать в качестве дополнительного метода диагностики воспалительных заболеваний пародонта.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Динамика уровня молекулярных маркеров десневой жидкости у пациентов с хроническим пародонтитом на фоне остеопороза / А.И. Ханина, А.П. Могила, **Л.С. Катханова** // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2013. – Vol. 3 (iss. 3). – P. 556.
2. Современные иммуноморфологические аспекты диагностики заболеваний пародонта / Л.Ю. Островская, Г.Д. Бейбулатов, А.И. Ханина, А.П. Могила, **Л.С. Катханова** // **Саратовский научно-медицинский журнал**. – 2013. – № 3. – С. 453–456.
3. Влияние гормональной регуляции на состояние тканей пародонта / Л.С. Катханова, Э.В. Акулова, А.В. Лысов, А.П. Могила // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2014. – Vol. 4 (iss. 12). – P. 1342.
4. Изменение баланса цитокинов в десневой жидкости при заболеваниях пародонта и его значение для прогнозирования регенераторных нарушений в тканях пародонта / Л.Ю. Островская, Н.Б. Захарова, А.П. Могила, **Л.С. Катханова**, Э.В. Акулова, Э.Б. Попыхова // **Саратовский научно-медицинский журнал**. – 2014. – № 3. – С. 435–440.
5. Применение пленок с витамином Д3 в лечении заболеваний пародонта / А.П. Могила, **Л.С. Катханова**, Э.В. Акулова, А.В. Лысов // Современные биоинженерные и ядерно-физические технологии в медицине: сб. материалов Всерос. молодеж. науч. конф. – Саратов, 2014. – С. 395–398.
6. Состав для получения стоматологической лечебно-профилактической пленки / Л.Ю. Островская, **Л.С. Катханова**, А.В. Лысов, Н.Б. Захарова,

В.А. Кошуро, С.Я. Пичхидзе // Молодежь и XXI век – 2015: материалы V Междунар. молодеж. конф. – Курск, 2015. – С. 79–81.

7. Влияние изменения гормональной регуляции у женщин в периоде репродуктивного старения на состояние тканей пародонта / Л.Ю. Островская, Н.Б. Захарова, А.П. Могила, **Л.С. Катханова**, Э.В. Акулова, А.В. Лысов // Клиническая геронтология. – 2016. – № 1–2. – С. 59–63.

8. Влияние витамина Д3 на цитокиносинтезирующую активность клеток десневой жидкости пародонта / Л.Ю. Островская, Н.Б. Захарова, А.П. Могила, **Л.С. Катханова**, Э.В. Акулова, А.В. Лысов // **Саратовский научно-медицинский журнал**. – 2016. – № 3. – С. 403–407.

9. Перспективы использования персонализированной медицины в диагностике заболеваний пародонта / Л.Ю. Островская, А.П. Будылева, Катханова Л.С., Акулова Э.В. // Актуальные проблемы стоматологии: сб. науч. ст. – Казань, 2017. – С. 213–216.

10. Факторы риска прогрессирования хронического генерализованного пародонтита у женщин в период менопаузы / Л.Ю. Островская, А.В. Лепилин, Н.Л. Ерокина, **Л.С. Катханова**, С.Б. Фищев // **Пародонтология**. – 2020. – № 3. – С. 201–205.

11. Gingival fluid as a potential object for diagnostics process / D. Beybulatova, N. Zakharova, **L. Katkhanova**, A. Lysov, A. Heigetyan, D. Domenyuk // **Archiv Euro Medica**. – 2020. – № 2. – P. 104–106.

12. Gum fluid biomarkers in personalized diagnostics of inflammatory periodontal diseases / L. Ostrovskaya, O. Eremin, N. Zakharova, **L. Katkhanova**, A. Parfenov, Ju. Kobzeva, T. Kochkonyan, D. Domenyuk // **Archiv Euro Medica**. – 2021. – № 4. – P. 126–131.

13. Возможности профилактики хронического пародонтита с позиций прецизионной медицины / **Л.С. Катханова**, О.В. Еремин, Н.Б. Захарова, Л.Ю. Островская // Dental Forum. – 2022. – № 4. – С. 42–43.

14. Информативность количественной оценки иммунорегуляторных медиаторов кревикулярной жидкости в прогнозировании характера течения

воспалительных заболеваний пародонта / О.В. Еремин, Л.Ю. Островская, Н.Б. Захарова, **Л.С. Катханова**, Ю.А. Кобзева, Д.А. Доменюк // **Пародонтология**. – 2022. – № 3. – С. 209–216.

15. Медиаторы кревикулярной жидкости в диагностике заболеваний пародонта / О.В. Еремин, Л.Ю. Островская, Н.Б. Захарова, **Л.С. Катханова**, А.К. Парфенов // Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Рос. конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). – М., 2022. – С. 14.

16. Перспективы прецизионной медицины в пародонтологии / **Л.С. Катханова** // Материалы 71-й науч. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием. – Махачкала, 2023. – С. 182–184.

17. Надёжные биомаркеры для принятия клинических решений при воспалительных заболеваниях пародонта / Н.Б. Захарова, Л.Ю. Островская, И.Н. Багирова, Е.Н. Ситникова, **Л.С. Катханова** // Материалы науч.-практ. конф. в рамках 10-го Рос. конгресса лабораторной медицины. – М., 2024. – С. 30–31.

18. Реализация прогностической стратегии в диагностике воспалительных заболеваний пародонта / Л.Ю. Островская, О.В. Еремин, Н.Б. Захарова, **Л.С. Катханова**, В.М. Моргунова, Ю.А. Кобзева, Д.А. Доменюк // **Пародонтология**. – 2024. – № 2. – С. 156–162.

Патент по теме диссертации

1. Патент RU 2595804 С1 Рос. Федерация, МПК А61К 6/00 (2006.01). Состав для получения стоматологической лечебно-профилактической пленки / Л.Ю. Островская, **Л.С. Катханова**, А.В. Лысов, Н.Б. Захарова, В.А. Кошуро, С.Я. Пичхидзе; заявл. 23.04.2015, опубл. 27.08.2016, Бюл. № 24. – 9 с.

Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ

1. Свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2022685089 Рос. Федерация. Программа для ЭВМ для персонализированной оценки тяжести поражения тканей пародонтального комплекса у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта / Л.Ю. Островская, О.В. Еремин,

Н.Б. Захарова, Л.С. Катханова, А.К. Парфенов; правообладатель ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2022685089; заявл. 07.12.2022, опубл.21.12.2022, Бюл. № 1. – 4 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГХ – гингивит хронический генерализованный катаральный

ИФА – иммуноферментный анализ

ПХГ – пародонтит хронический генерализованный

СтАР – стоматологическая Ассоциация России

ЭВМ – электронно-вычислительная машина

AUC ROC – Area Under Curve Receiver operating characteristic (площадь под кривой, построенной для логистической регрессии)

GSF – gingival sulcular fluid (сулькулярная жидкость)

IFN- γ – Interferon-gamma (интерферон-гамма)

IL – Interleukin (интерлейкин)

IL-1RA– Interleukin-1 Receptor Antagonist (рецепторный антагонист интерлейкина-1)

MCP-1 – Monocyte Chemoattractant Protein-1 (моноцитарный хемоаттрактантный белок-1)

ОHI-s – Oral Hygiene Indices – Simplified (упрощенный индекс гигиены)

PBI – Papilla Bleeding Index (by Saxer and Muhlemann) (индекс кровоточивости по Заксеру и Мюллеману)

PD – periodontal diseases (воспалительные заболевания пародонта)

PMA – Papillary-Marginal-Alveolar Index (by Parma) (папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс Парма)

PI – Periodontal Index by Russell (пародонтальный индекс Руссела)

TNF- α – Tumor Necrosis Factor alfa (фактор некроза опухоли альфа)

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor (сосудистый эндотелиальный фактор роста)

Научное издание

Катханова Лилия Султановна

**ПЕРСПЕКТИВЫ ПРЕДИКТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА**

3.1.7. Стоматология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 06.06.2025 г.

Формат 60 x 84 1/16

Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать цифровая.

Объем 1,0 печ. л. Тираж 100. Заказ №

Отпечатано с готового оригинал-макета