

Мяндиев Морис Садикович

**Клинико-лабораторные критерии эффективности противовоспалительной
терапии при лечении пациентов с воспалительными заболеваниями
пародонта**

14.01.14 – Стоматология

А в т о р е ф е р а т

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва 2020

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

член- корр. РАН, доктор медицинских наук,
профессор

Иванов Сергей Юрьевич

Научный консультант:

доктор медицинских наук, доцент

Нелюбин Владимир Николаевич

Официальные оппоненты:

Вагнер Владимир Давыдович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел организации стоматологической службы лицензирования и аккредитации, заведующий отделом

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

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «18» февраля 2021г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.07 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте www.sechenov.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2020г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент



Дикопова Наталья Жоржевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Воспалительные заболевания пародонта представляют собой наиболее сложную проблему в практической стоматологии. Пародонтиты занимают второе место после кариозного поражения зубов. По данным научной группы ВОЗ, распространение заболеваний пародонта в мире имеет достаточно высокий уровень. Эта патология встречается в 55 - 89% случаев уже у лиц молодого возраста (15-19 лет). В более старших возрастных группах заболевания пародонта регистрируется у 65 - 98% популяции [Бондаренко И.С., Маланьин И.В., 2007].

Пародонтит имеет мультифакторную этиологию, в которой наличие агрессивной десневой микробиоты и ослабленное состояние иммунной системы приводит к заболеванию и его прогрессированию [Nibali L., Henderson B., Sadiq ST., Donos N., 2014]. Известно, что в патогенезе заболеваний пародонта принимает непосредственное участие так называемая пародонтопатогенная микрофлора. Из многочисленных литературных данных следует, что наибольшей агрессивностью обладают *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum* [Грудянов А.И., 2008; Kumawat R.M., Ganvir S.M., Hazarey V.K., 2016; . Belstrom N.E., Fiehn, Nielsen C.N., 2014; Puig-Silla M., Montiel-Company JM., 2016].

В последнее время дискутируется вопрос о роли вирусных инфекций в прогрессировании деструктивных процессов в пародонте [Гранитов В.М., 2001; Овчинникова В.В. 2005; Шульженко А. 2004; Zhu C., Li F., Wong MC., 2015; Slots J. , 2015]. Тем не менее, исследований по вирусному спектру при заболеваниях пародонта явно не достаточно. Особенно это касается вирусов группы герпеса и возможной их связи с пародонтитами. Поскольку герпесвирусы очень широко распространены среди населения земного шара, вполне есть вероятность, что они могут принимать участие в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта [Грудянов, А.И. 2004; Li F., Zhu C., Deng FY., Wong MCM., 2017; Khosropanah H., Karandish M., 2015; Nonnenmacher C., Dalpke A., Mutters R., 2004].

Другим аспектом диагностики и лечения пародонтитов является разработка критериев эффективности лечения при этих заболеваниях. Ранее в большинстве случаев эффективность применяемого лечения основывалась в основном на клинических

критериях, таких как индексы здоровья пародонта: пародонтальный индекс (ПИ) по A.Russel (1956), индекс гигиены (ИГ) по Green-Vermillion (1964), папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (ПМА) по С. Parma (1960), другим индексам оценки здоровья пародонта, а также по субъективным ощущениям пациента. На современном этапе все больше появляется работ по поиску лабораторных критериев, которые могут свидетельствовать об улучшении состояния тканей пародонта после лечения.

Проводятся микробиологические исследования аэробной и анаэробной флоры полости рта, определение различных представителей микробиоты молекулярно – генетическими методами, оценка биохимических показателей слюны и десневой жидкости [Балмасова, И.П., 2013; Иванюшко, Т.П. 2011, 2014; Усманова И.Н., Герасимова Л.П., Кабирова М.Ф., 2014]. Большой практический интерес представляет изучение динамики изменения пародонтопатогенной микрофлоры в количественном отношении. Рядом авторов предлагается количественное определение представителей пародонтопатогенной микрофлоры для оценки эффекта применяемых для лечения препаратов [Иванюшко Т.П. 2019; Зорина О.А., Кулаков А.А., 2011; Рахвиашвили Б. А., 2013]. Однако, использование только лабораторных критериев не может являться полноценной системой оценки эффективности лечения. Важнейшей составляющей в комплексе критериев несомненно будут объективные клинические данные. Таким образом, сочетание объективных клинических критериев и данных лабораторного исследования помогут наиболее точно определить эффективность применяемого лечения.

Степень разработанности темы исследования

В Российской и зарубежной литературе представлено достаточно большое количество исследований по проблеме заболеваний пародонта, однако до сих пор нет четких критериев оценки эффективности нехирургической терапии данной нозологии, которые могли бы быть приняты в широкой стоматологической практике.

В настоящее время наиболее распространены и применяются в клинической практике, так называемые индексы оценки здоровья пародонта. Эти индексы характеризуют выраженность таких симптомов, как воспаление и кровоточивость десен, подвижность зубов, глубина десневых и пародонтальных карманов. Тем не менее, за некоторым исключением, они носят субъективный характер.

Во многих работах в качестве критериев указываются отдельные лабораторные показатели десневой жидкости, наличие пародонтопатогеной микрофлоры. Но в большинстве случаев нет четких цифровых данных по этим показателям.

Недостаточно литературных данных по сопоставлению объективных клинических показателей эффективности терапии и лабораторных количественных данных, характеризующих динамику воспалительного процесса.

В связи с этим, наши исследования были направлены на определение объективных клинических и количественных лабораторных критериев оценки эффективности нехирургической терапии заболеваний пародонта.

Цель исследования

Разработать и внедрить клинико-лабораторные критерии эффективности терапии воспалительных заболеваний пародонта.

Задачи исследования

1. Оценить состав аэробной части микробиоты пародонта и наличия генов резистентности к антибиотикам у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта.
2. Провести количественную оценку анаэробной составляющей пародонтопатогенов у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта и условно здоровых лиц.
3. Изучить клиническую и микробиологическую эффективность терапии хронического пародонтита с использованием иммуностропных препаратов.
4. Дать научное сопоставление клинико-микробиологической эффективности в процессе лечения с индексами здоровья пародонта и предложить на основе этих данных комплекс объективных критериев оценки эффективности лечения пародонтитов.

Научная новизна

1. Впервые проведено количественное исследование анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры по показателям ПЦР с использованием в терапии иммуностропного препарата.
2. Впервые проведено сопоставление количественных данных определения *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum* с объективными клиническими данными.

3. Впервые на основании сопоставления клинических и лабораторных результатов исследований предложен комплекс критериев оценки эффективности иммунотерапии на примере применения препарата «Рибон. Гель для дёсен».

Практическая значимость

Количественная оценка представителей пародонтопатогенной микрофлоры (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum*), определение генов резистентности к антимикробным препаратам, и сопоставление их с клиническими данными позволили предложить комплекс клинико -лабораторных критериев для оценки эффективности лечения заболеваний пародонта, в том числе с применением иммуотропных препаратов.

Научные положения, выносимые на защиту

1. Патогенетической основой неэффективности лечения заболеваний пародонта является большое количество основных представителей пародонтопатогенов и наличие генов резистентности к антибиотикам у представителей микробиоты пародонта.
2. Количественные показатели основных пародонтопатогенных микроорганизмов (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum*) находятся в прямой корреляционной связи с тяжестью поражения пародонтальных тканей и клинических показателей здоровья пародонта.
3. Научно обоснованы клинико – лабораторные критерии оценки эффективности лечения воспалительных заболеваний пародонта, включающие – количественное определение *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum*, а так же наличие генов резистентности у представителей микробиоты пародонта в сопоставлении с индексами здоровья пародонта. Это позволит обоснованно назначать этиотропную терапию, своевременно включать иммунокорректирующую терапию и определять необходимость и объем хирургического лечения.

Степень достоверности, апробация результатов, личный вклад автора

Достоверность результатов работы, правомочность основных положений и выводов основаны на достаточном числе наблюдений, четких критериев включения в исследование, глубине литературно – библиографической проработки исследуемой проблемы и статистической обработки полученных данных.

Апробация диссертации осуществлена на совместном заседании кафедры челюстно – лицевой хирургии и лаборатории патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний НИМСИ ФГБОУ ВО МГМСУ им. Евдокимова Минздрава России.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на: форуме «Национальные дни лабораторной медицины России – 2016», (14-16 сент. 2016, г. Москва), IX Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (27 – 29 марта 2017, Москва), международном форуме Clinical Chemistry and Laboratory Medicine IFCC WorldLab 2017 – Durban, South Africa, 22-25 October 2017, III Российском конгрессе лабораторной медицины (11 –13 октября 2017, г. Москва), международной конференции «Молекулярная диагностика 2018» (27 – 28 сентября 2018, Минск), IV Российском конгрессе лабораторной медицины (3 – 5 октября 2018, г. Москва), V Российском конгрессе лабораторной медицины (11 – 13 сентября 2019 , г. Москва).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 7 в изданиях, рекомендованных ВАК, для публикации материалов кандидатских и докторских диссертаций. Из них 2 в изданиях, цитирующихся в базе Scopus и 1 в зарубежных изданиях.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в том, что он полностью осуществлял подбор пациентов по критериям включения и распределение их по группам. Провел клиническое обследование пациентов, участвовал в рентгенологическом и лабораторных исследованиях. Участвовал в лабораторных исследованиях. Самостоятельно оценил результаты полученных данных и провел их статистическую обработку.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы внедрены в программу преподавания на кафедре челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», в отделении челюстно-лицевой и стоматологическом

отделении Центрального клинического военного госпиталя и в стоматологической клиники “Стоматология Доктор Жан”.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.14 – Стоматология (медицинские науки). Области исследований согласно пп.1,2,3.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», двух глав результатов собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 158 источников, в том числе - 87 отечественных и 71 - зарубежных изданий.

Текст диссертации включает 99 страниц машинописного текста, иллюстрирован 12 таблицами, 28 рисунками и фотографиями.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Обследование пациентов с заболеваниями пародонта и экспериментальную часть проводили в два этапа. Всего обследован 91 пациент, прошедший критерии включения в настоящее исследование. От всех пациентов получено письменное информированное согласие.

На первом этапе для определения значимости микробиологических данных у 55 пациентов с локальным пародонтитом (ЛП, n =18), генерализованным пародонтитом (ГП, n = 16) и условно здоровых лиц (УЗЛ, n = 21) оценивали анамнестические и клинические данные и определяли: наличие аэробной микрофлоры, ее чувствительность к антибиотикам бактериологическим методом и наличие генов резистентности у представителей выделенных культур методом ПЦР. Оценивали совпадение данных бактериологии и ПЦР.

Биологический материал от пациентов забирали при помощи зондов из полимерного материала и с помощью шприца с обрезанным кончиком иглы.

На втором этапе оценивали эффективность лечения по традиционной схеме и с применением иммуностропного препарата «Ребон. Гель для дёсен».

Препарат «Ребон. Гель для дёсен» (ООО «ДжиЭф Групп», Россия) представляет собой комплекс из рекомбинантного фактора роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor, VEGF) и биорезорбируемых карбогидратов на основе карбоксиметилцеллюлозы, способной формировать клеточную основу аналогичную природному экстраклеточному матриксу. Содержит соли натрия, калия, фосфора, хлора для обеспечения баланса рН тканей и рекомбинантный фактор роста эндотелия сосудов человека. Препарат вводили однократно в первый второй , третий и четвертый день лечения.

Для выполнения поставленной цели пациенты были разделены на 2 группы (Таблица 1).

В группу 1 вошли 17 пациентов с диагнозом пародонтит легкой (м-5, ж-5) и средней степени тяжести (м-4, ж-5). Им проводили традиционную терапию, включающую вскрытие подслизистого или поднадкостничного очага воспаления, закрытый кюретаж, удаление над- и поддесневых отложений, при необходимости – снятие несъемных ортопедических конструкций.

Исследуемую группу (группа 2) составили 19 человек с диагнозом пародонтит легкой (м-5, ж-4) и 10 средней степени тяжести (м-5, ж-5). Данным пациентам проведена комплексная терапия пародонтита с применением геля VEGF. Терапевтический эффект оценивался на основании сравнительного анализа клинических и лабораторных данных, полученных до и после лечения.

Таблица 1 – Возрастные данные пациентов

Группа пациентов	Количество	Медиана возраста
Традиционная терапия (группа 1)	17	Me=64; [LQ=57:UQ=70]
С применением геля (группа 2)	19	Me=63; [LQ=61:UQ=70]

Препарат при помощи 2 мл шприца с обрезанным кончиком иглы вводили в пародонтальный карман на $\frac{3}{4}$ глубины (Рисунок 1).



Рисунок 1. Введение препарата

Пациенты приходили на контрольный осмотр спустя 1,2,7, 14 и 30 суток. Пробы из пародонтального кармана для лабораторного исследования брали по вышеописанной методике до лечения и на 14 сутки после его проведения.

Оценку состояния парадонта обследуемых пациентов проводили по общепринятой схеме:

- оценивали состояние десен с помощью клинико-индексной оценки
- определяли степени потери прикрепления (подвижности) зубов;
- определяли тяжесть поражений парадонта на участке фуркации корней;
- проводили оценку состояния гигиены рта пациента и степени воспаления парадонта;
- обследовали слизистую оболочку полости рта;
- проводили рентгенологическое исследование.

Все пациенты, помимо традиционного клинического обследования с целью выявления осложнений воспалительного или иного характера, проходили микробиологическое, молекулярно-генетическое обследование.

Наличие микрофлоры определяли методом ПЦР в реальном времени в качественном и количественном вариантах на приборах «CFX – 96», фирмы «Bio-Rad», США и «Rotor Gene3000», производства «Corbett Research», Германия.

У пациентов указанных выше групп количественным методом ПЦР в реальном времени определяли наличие *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*.

У этих же пациентов параллельно определяли наличие генов, обуславливающих

резистентность к антимикробным препаратам (АМП), методом ПЦР в реальном времени. Для этого использовали указанные приборы для ПЦР и коммерческие ПЦР тест-системы производства НПФ «Литех» и «Ампли Сенс», Россия.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft, США) версия 12.0. с расчетом средних арифметических величин, предельными отклонениями и среднеквадратичной ошибки. Соответствие данных нормальному распределению проверяли по критерию Колмогорова-Смирнова. При отсутствии нормального распределения данных использовали непараметрические критерии. В качестве критерия достоверности использовали статистический критерий Вилкоксона-Манна-Уитни для двух несвязанных групп и Краскелла-Уоллиса ANOVA для трех и более несвязанных групп. При анализе взаимосвязей внутри пары количественных или порядковых качественных признаков использовали корреляционный анализ по методу Спирмена. Достоверными принимались значения при $p < 0,05$.

Результаты собственных исследований

По результатам исследования на первом этапе было выявлено, что при пародонтитах (ГП и ЛП) перечень и количество микроорганизмов ротовой полости значительно отличается от таковых у условно здоровых лиц (УЗЛ). Чем более существеннее воспалительные явления, тем более преобладали патогенные микроорганизмы. На рисунках 1,2,3 показано процентное соотношение представителей аэробной флоры оральной микробиоты при ЛП, ГП. И УЗЛ.

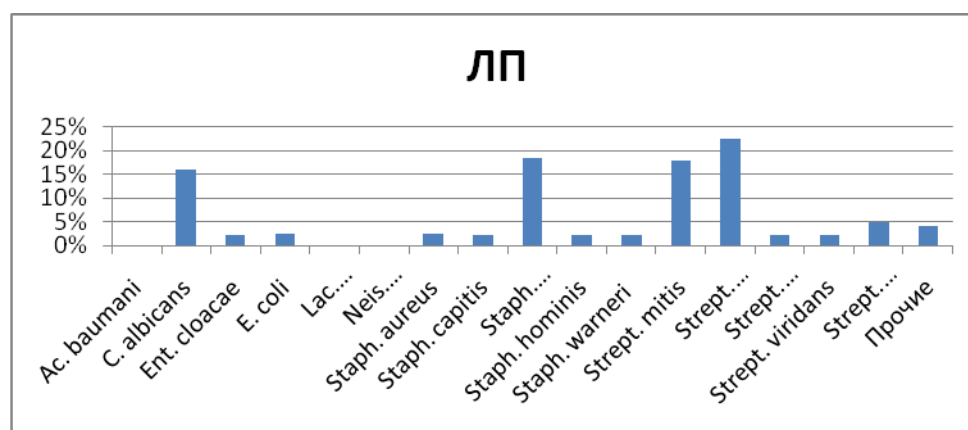


Рисунок 1. Частота выявления аэробных микроорганизмов при локальном



Рисунок 2. Частота выявления аэробных микроорганизмов при генерализованном пародонтите

Известно, что наиболее патогенными микроорганизмами при заболеваниях пародонта являются анаэробные микроорганизмы. В связи с этим мы провели количественное определение *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* в очагах воспаления. При сопоставлении результатов клинического и инструментального исследований с данными, полученными микробиологическим и молекулярно – биологическим методами нами предполагалось выявить наиболее значимые критерии для оценки состояния тканей пародонта для дальнейшей оценки эффективности терапии указанной патологии. Сопоставление клинических и лабораторных показателей у пациентов первого этапа исследований представлено в таблице 2.

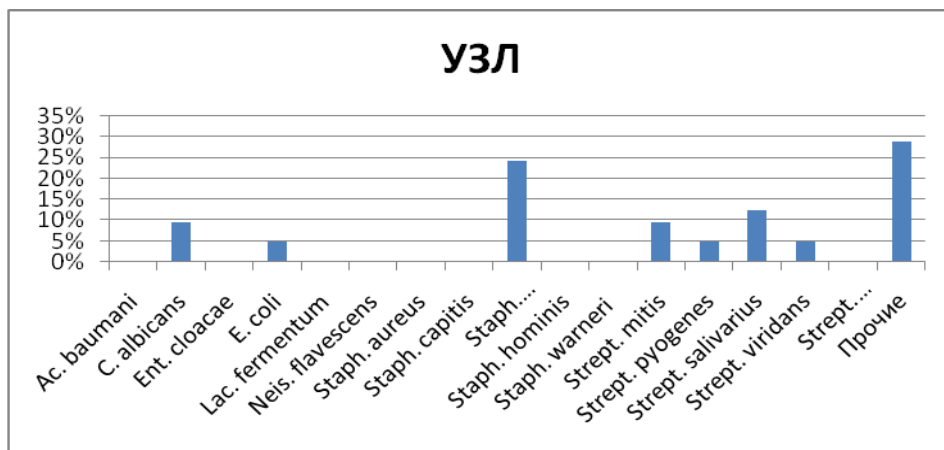


Рисунок 3. Частота выявления аэробных микроорганизмов у условно здоровых лиц

Немаловажным критерием в различиях между рассматриваемыми группами является наличие генов резистентности к АМП. В группах с ГП и ЛП они определялись практически с одинаковой частотой – 18,3 %. При этом, в группе с генерализованным пародонтитом были обнаружены: МесА - 11,4%, NDM - 6,9 %. В группе с локальным пародонтитом: МесА – 10,5%, NDM - 2,6%, VIM- 2,6%, ОХА-48- 2,6%. Причем ген резистентности МесА *S. aureus* выявлялся в культуре *Staphylococcus epidermidis* - 7,4%. В группе условно здоровых лиц гены, обуславливающие резистентность к антибиотикам, обнаружены не были.

Таблица 2 – Клинические и лабораторные показатели в исследуемых группах (средние значения)

Группа / Показатель	Г П (n=16)	Л П (n=18)	УЗЛ (n=21)
ПМА (С. Parma)	51,3	62,3	0,05
ПИ (А. Russel)	1,2	3,6 *	0,03
ИК ((SBI))	3,3	3,8	1,2
ПК	3,1	4,8	1,1
КПИ	2,8	3,5	0,2
Подвижность зубов	18,0	22,0	9,0
<i>A. actinomycetomcomitans</i> (коп./мл)	553,3	405,8	6,8
<i>P.gingivalis</i> (коп./мл)	40,29 · 10⁷	56,54 · 10⁷	15,24 · 10⁷
<i>P.endodontalis</i> (коп./мл)	43,6 · 10⁷	83,4 · 10⁷	0,1 · 10⁷
<i>T.denticola</i> (коп./мл)	19,51 · 10⁴	3,5 · 10⁴ *	0,098 · 10⁴
<i>T.forsintia</i> (коп./мл)	102,1 · 10⁴	6,8 · 10⁴ *	0,05 · 10⁴
<i>P.intermedia</i> (коп./мл)	998,9 · 10⁵	1244,6 · 10⁵	0,3 · 10⁵
<i>F.nucleatum</i> (коп./мл)	39,2 · 10³	17,7 · 10³	5,2 · 10³
Гены резистентности к АМП	МесА - 11,4%, NDM - 6,9 %.	МесА – 10,5%, NDM - 2,6%, VIM- 2,6%, ОХА-48- 2,6%.	Не обнаружено

* - достоверность отличий между группами ГП и ЛП ($p \leq 0,05$).

Таким образом, в результате исследований на первом этапе было определено, что все показатели в группе условно здоровых лиц (УЗЛ) имели достоверные отличия от таковых в группах с генерализованным (ГП) и локальным (ЛП) пародонтитом ($p \leq 0,05$). Достоверные различия между группами ГП и ЛП были выявлены только по пародонтальному индексу (ПИ по А. Russel) и по количественным показателям *T.denticola* и *T.forsintia* ($p \leq 0,05$). Особое значение имели исследования на определение генов резистентности к АМП.

На втором этапе выбранные показатели были использованы как критерии оценки эффективности терапии обычным методом и с применением иммуностропного препарата «Ребон. Гель для дёсен» (ООО «ДжиЭф Груп», Россия). Были получены следующие результаты (Таблицы 3, 4, 5)

Таблица 3 – Результаты количественного определения представителей пародонтопатогенной микрофлоры (коп./мл) 17 пациентов (группа 1) до и после лечения без препарата «Ребон. Гель для дёсен»

Микро-организм	Лечение	M	Me	LQ	UQ	P
<i>A. a.</i>	До	215479,6	13,0	0	2855,0	0,008
	После	38156,7	0	0	165,0	
<i>P. g.</i>	До	$18,4 \cdot 10^5$	$0,15 \cdot 10^5$	$0,04 \cdot 10^5$	$10,5 \cdot 10^5$	0,58*
	После	$38,15 \cdot 10^5$	$0,13 \cdot 10^5$	$0,05 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^5$	
<i>P. e.</i>	До	$637,5 \cdot 10^5$	$2,0 \cdot 10^5$	$0,17 \cdot 10^5$	$314,6 \cdot 10^5$	0,01
	После	$25,7 \cdot 10^5$	$0,7 \cdot 10^5$	$0,014 \cdot 10^5$	$65,3 \cdot 10^5$	
<i>T. d.</i>	До	$121,5 \cdot 10^5$	$38,1 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^5$	$142,1 \cdot 10^5$	0,04
	После	$83,1 \cdot 10^5$	$11,0 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^5$	$25,3 \cdot 10^5$	
<i>T. f.</i>	До	$17,3 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^5$	$0,44 \cdot 10^5$	$14,6 \cdot 10^5$	0,05
	После	$3,9 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^5$	$0,05 \cdot 10^5$	$7,1 \cdot 10^5$	
<i>P. i.</i>	До	$27,7 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^5$	$0,21 \cdot 10^5$	$33,8 \cdot 10^5$	0,001
	После	$5,9 \cdot 10^5$	$0,25 \cdot 10^5$	$0,01 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^5$	
<i>F. n.</i>	До	$28,5 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^5$	$0,18 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^5$	0,001
	После	$8,6 \cdot 10^5$	$0,3 \cdot 10^5$	$0,02 \cdot 10^5$	$0,3 \cdot 10^5$	

Примечание: *A. a.*- *A. actinomycetomcomitans*; *P. g.*- *P. gingivalis*; *P. e.*- *P. endodontalis*; *T. d.*- *T. denticola*; *T. f.* - *T. forsythia*; *P. i.*- *P. intermedia*; *F. n.* - *F. nucleatum*. М – среднее значение; Me – медиана; LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль; P – достоверность различий по Манну – Уитни; * - различия недостоверны.

Таблица 4 – Результаты количественного определения представителей пародонтопатогенной микрофлоры (коп./мл) 19 пациентов (группа 2) до и после лечения с применением препарата «Рибон. Гель для дёсен»

Микро-организм	Лечение	M	Me	LQ	UQ	P
A. a.	До	227703,5	15,0	0	26664,0	0,009
	После	3619,8	0	0	15,0	
P. g.	До	$12,7 \cdot 10^5$	$0,03 \cdot 10^5$	$0,02 \cdot 10^5$	$9,7 \cdot 10^5$	0,42 *
	После	$7,0 \cdot 10^5$	$0,12 \cdot 10^5$	$0,02 \cdot 10^5$	$0,9 \cdot 10^5$	
P. e.	До	$158,2 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^5$	$0,12 \cdot 10^5$	$66,6 \cdot 10^5$	0,005
	После	$5,3 \cdot 10^5$	$0,2 \cdot 10^5$	$0,007 \cdot 10^5$	$0,2 \cdot 10^5$	
T. d.	До	$161,5 \cdot 10^5$	$43,4 \cdot 10^5$	$1,98 \cdot 10^5$	$142,0 \cdot 10^5$	0,016
	После	$19,6 \cdot 10^5$	$6,6 \cdot 10^5$	$0,05 \cdot 10^5$	$15,6 \cdot 10^5$	
T. f.	До	$15,2 \cdot 10^5$	$6,5 \cdot 10^5$	$0,32 \cdot 10^5$	$12,1 \cdot 10^5$	0,03
	После	$3,6 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$	$0,02 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^5$	
P. i.	До	$33,8 \cdot 10^5$	$2,1 \cdot 10^5$	$0,15 \cdot 10^5$	$45,2 \cdot 10^5$	0,0009
	После	$3,0 \cdot 10^5$	$0,13 \cdot 10^5$	$0,009 \cdot 10^5$	$0,9 \cdot 10^5$	
F. n.	До	$23,8 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^5$	$0,15 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$	0,0007
	После	$1,7 \cdot 10^5$	$0,1 \cdot 10^5$	$0,008 \cdot 10^5$	$0,2 \cdot 10^5$	

Примечание: A. a.- *A. actinomycetomcomitans*; P. g.- *P. gingivalis*; P. e.- *P. endodontalis*; T. d.- *T. denticola*; T. f. - *T. forsythia*; P. i.- *P. intermedia*; F. n. - *F. nucleatum*. M – среднее значение; Me – медиана; LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль; P – достоверность различий по Манну – Уитни; * - различия недостоверны.

Таблица 5 – Сравнительные данные по индексам здоровья пародонта до и после лечения геля в группах 1 и 2 на 14 сутки после лечения (Me)

Показатель		ПМА (С. Parma) %	ПИ (А. Russel)	ИК (SBI) %	ПК	КПИ	Подвижность зубов
Группа	Традиционная терапия (группа 1) n=17						
	До лечения	51,29	3,6	40,26	3,2	2,89	20,0
	После лечения	40,2	1,5	25,5	2,0	0,78	13,5
С применением геля (группа 2) n=19	До лечения	63,72	3,22	42,1	3,0	3,14	18,0
	После лечения	18,94	0,72	18,4	1,5	0,25	9,0

Таким образом, мы получили данные, что выбранные клиничко – лабораторные критерии, которые мы определили, могут служить показателями оценки эффективности нехирургической терапии заболеваний пародонта. Используя данные критерии можно оценить эффективность применяемой терапии.

Приведем клинические примеры.

Клинический пример 1

Пациентка А. 49 лет, обратилась в поликлинику с жалобами на подвижность нижних резцов, кровоточивость десен после чистки зубов, оголение шеек верхней трети зубов.

Из анамнеза: детские инфекции, простудные заболевания. Аллергических реакции не выявлено, наследственные заболевания отрицает, вредные привычки отрицает.

Объективно: глотание безболезненное, открывание рта в полном объеме. Поднижнечелюстные, подъязычные, шейные лимфатические узлы не увеличены, при пальпации безболезненные. Язык чистый. Слизистая полости рта бледно-розового цвета, без видимых патологических изменений. Предварительный диагноз: пародонтит легкой степени тяжести. План лечения: после сбора анамнеза и осмотра, выполнены дополнительные методы исследования: рентгеновское исследование зубов 31,32,41,42, определение глубины зубодесневого кармана с помощью градуированного зонда, определен индекс здоровья пародонта. Назначена профессиональная гигиена полости рта, закрытый кюретаж зубодесневых карманов, обработка ротовой полости хлоргексидином. Проведено введение геля “Ребон” в зубодесневой карман. Наблюдение пациента.

Показатели до лечения.

Индексы гигиены и пародонтологические индексы: ПМА - 35,8%, ПИ - 2,5; ИК - 3, ПК – 5 мм; КПИ - 3; подвижность зубов – 20,5.

Количество обнаруженной парадонтопатогенной микрофлоры составило: *A. actinomycetemcomitans* – 20 573; *P. endodontalis* - 129000000; *T. denticola*- 10000000; *T. forsythia* - 8450000; *P. intermedia* - 1140000; *F. nucleatum* -10600000.

Показатели после лечения.

Через 14 дней после начала лечения, пациент отмечает снижение кровоточивости и незначительное уменьшение подвижности зубов.

Индексы гигиены и пародонтологические индексы: ПМА - 25,6% , ПИ - 1,5; ИК - 2, ПК – 3 мм; КПИ - 2 ; подвижность зубов – 14,0.

Количество обнаруженной парадонтопатогенной микрофлоры составило: *A. actinomycetemcomitans* - 70; *P. endodontalis* - 1129714 ; *T. denticola*- 744000; *T. forsythia* - 179000; *P. intermedia* - 210; *F. nucleatum* – 11600.

Таблица 6 – Кратность снижения количества микроорганизмов после применения геля на 14 сутки у пациента А.

Микроорганизм	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>P. endodontalis</i>	<i>T. denticola</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>F. nucleatum</i>
Кратность снижения количества после лечения	293,9	114,2	13,44	47,2	5428,6	913,8

Клинический пример 2

Пациент Б. обратился за стоматологической помощью с жалобами на кровоточивость десен, неприятный запах изо рта, подвижность и смещение зубов, периодическую боль при приеме пищи.

Из анамнеза: детские инфекции, простудные заболевания. Аллергических реакции не выявлено, наследственные заболевания отрицает, вредные привычки отрицает

Объективно: глотание безболезненное, открывание рта в полном объеме. Поднижнечелюстные, подъязычные, шейные лимфатические узлы не увеличены, при пальпации безболезненные. Язык чистый. Слизистая полости рта умеренно увлажнена, имеются признаки хронического воспаления десен: гиперемия, кровоточивость, имеются над- и поддесневые зубные отложения. Предварительный диагноз: хронический пародонтит средней степени тяжести .

До лечения. Индексы гигиены и пародонтологические индексы: ПМА - 56,8% , ПИ - 3,7; ИК - 3, ПК – 6 мм; КПИ - 3,5. Подвижность в области нижних фронтальных зубов II-III степени. Глубина зубодесневого кармана у зуба 31 = 6 мм, у зуба 43 = 6 мм. Количество обнаруженной парадонтопатогенной микрофлоры составило: *A. actinomycetemcomitans* - 4270000; *P. endodontalis* - 129000000; *T. denticola*- 23100000;

T. forsythia - 1210000; *P. intermedia* - 244359; *F. nucleatum* – 252000. Назначена профессиональная гигиена полости рта, закрытый кюретаж зубодесневых карманов, обработка ротовой полости хлоргексидином. Проведено введение геля «Рибон» в зубодесневой карман. Наблюдение пациента. После проведенной терапии через 14 дней после начала лечения, пациент отмечает снижение кровоточивости и незначительное уменьшение подвижности зубов. Индексы гигиены и пародонтологические индексы: ПМА - 25,9% , ПИ - 3,0; ИК – 2,6, ПК – 3 мм; КПИ - 3,0. Глубина зубодесневого кармана у зуба 31 = 3мм, у зуба 43 = 4 мм. Подвижность в области нижних фронтальных зубов II степени. Количество обнаруженной парадонтопатогенной микрофлоры составило: *A. actinomycetemcomitans* - 68600 ; *P. endodontalis* – 1210000; *T. denticola*- 38000; ; *T. forsythia*- 1120 ; *P. intermedia* - 1841 ; *F. nucleatum* – 655.

Таблица 7 – Кратность снижения количества микроорганизмов после применения геля на 14 сутки у пациента Б

Микроорганизм	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>P. endodontalis</i>	<i>T. denticola</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>F. nucleatum</i>
Кратность снижения количества после лечения	62,2	106,6	607,9	1080,4	132,7	384,7

Из приведенных клинических примеров видно, что уже через 14 суток после лечения с использованием препарата «Рибон. Гель для десен» наблюдается существенное улучшение, как клинических показателей, так и значительное снижение количества представителей парадонтопатогенной микрофлоры.

Индексы гигиены полости рта, подвижность зубов, глубина пародонтальных карманов, так же как и кровоточивость снижались уже к 14 суткам после начала лечения.

Данные клинические примеры показывают, что существуют некоторые индивидуальные особенности у пациентов в количестве и кратности снижения пародонтопатогенных микроорганизмов в процессе лечения. Если в клиническом примере 1 наибольшая кратность снижения наблюдалась в отношении *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* и *F. nucleatum*, то в примере 2 значительная кратность снижения была в отношении *T. denticola*, *T. forsythia* и *F. nucleatum*. Тем не менее, все указанные в таблицах 9 и 10 микробные патогены в процессе лечения снижались как минимум в десятки раз.

Заслуживает внимание следующий факт. При осмотре пациентов через месяц после начала лечения существенно улучшились такие клинические показатели как глубина пародонтального кармана и подвижность зубов (см. рисунки 2,3,4,5).

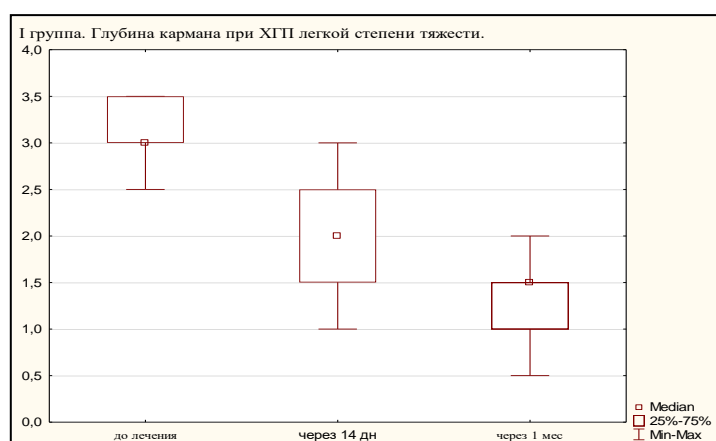


Рисунок 2. Динамика изменения глубины пародонтального кармана в группе 1 (лечение без применения геля)

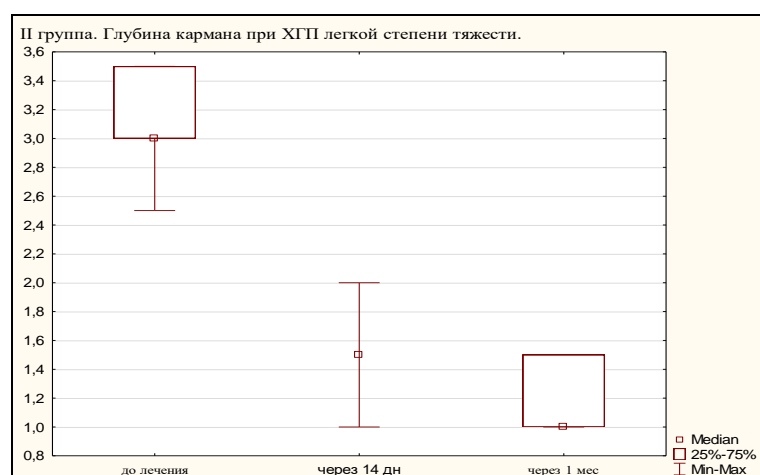


Рисунок 3. Динамика изменения глубины пародонтального кармана в группе 2 (лечение с применением геля)

Сочетанное использование пародонтальных индексов, показателей, касающихся кровоточивости десен, глубины пародонтального кармана и подвижности зубов с определением количества основных пародонтопатогенных бактерий позволит более объективно оценивать эффективность терапии, что особенно важно при внедрении новых препаратов и методов лечения данной патологии

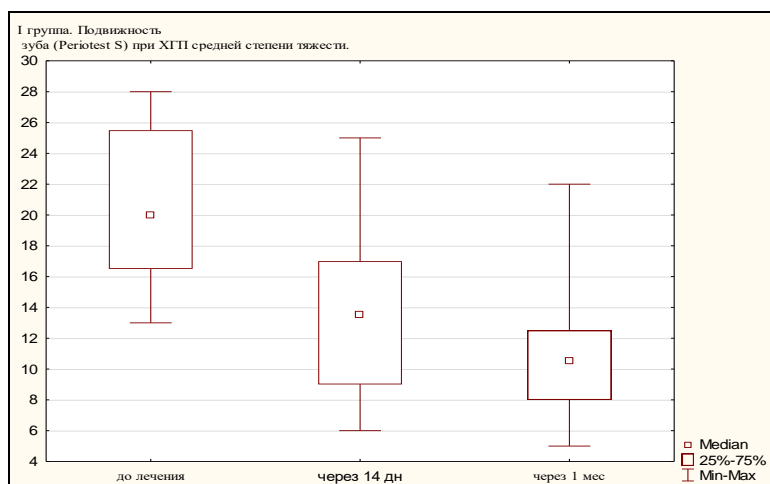


Рисунок 4. Динамика изменения подвижности зубов в группе 1 (лечение без применения геля)

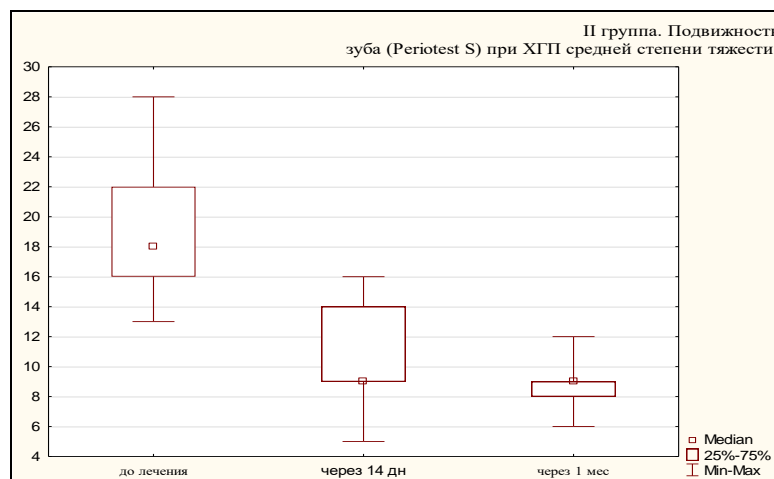


Рисунок 5. Динамика изменения подвижности зубов в группе 2 (лечение с применением геля)

Тем не менее, на наш взгляд в комплексную оценку эффективности терапии пародонтитов следует включить:

1. Количественную оценку паропатогенной микрофлоры (*P. endodontalis*; *T. denticola*; *T. forsythia*; *P. intermedia*; *F. nucleatum*.) у каждого конкретного пациента до начала лечения и не ранее 14 суток после начала лечения. Возможно ограничиться

определением количества трех из указанных микроорганизмов. Наиболее показательными, на наш взгляд, являются *P. endodontalis*; *P. intermedia*; *F. nucleatum*. Показателем эффективности лечения считать снижение количества микроорганизмов в 100 и более раз.

2. Определение глубины пародонтального кармана и подвижности зубов. Эти клинические показатели в большей степени отражают состояние тканей пародонта.

3. Вспомогательными показателями следует считать индексы здоровья полости рта (ПМА по С. Parma, ПИ по А. Russel; ИК – SBI), наличие генов резистентности к АМП определяемых до начала лечения и не ранее 14 суток после его начала.

ВЫВОДЫ

1. Состав аэробной части микробиоты представлен в широких пределах, в зависимости от степени тяжести поражения пародонта. Наличие генов резистентности к антибиотикам у оральной микробиоты пациентов свидетельствует о тяжести поражения тканей пародонта и возможной устойчивости к терапии АМП.

2. Количественные показатели анаэробной составляющей пародонтопатогенной микрофлоры у пациентов с различными формами пародонтита коррелирует со степенью тяжести заболевания. У условно здоровых лиц представители «красного» и «оранжевого» комплексов определяются в значительно меньших количествах, чем при патологии.

3. К основным патогенам оральной микробиоты, свидетельствующих о тяжести патологического процесса, следует отнести: *A. actinomycetemcomitans*; *P. endodontalis*; *T. denticola*; *T. forsythia* ; *P. intermedia*; *F. nucleatum*, а так же наличие вирусов группы герпеса.

4. Сопоставление клинических и лабораторных данных позволило предложить комплекс критериев оценки эффективности терапии пародонтитов. А именно: глубину пародонтального кармана и подвижность зубов, поскольку данные показатели имеют прямую корреляционную связь с количеством основных патогенов при пародонтитах и количественное определение пародонтопатогенных микроорганизмов. Наличие генов резистентности (СТХ-М, МесА, ТЕМ) у представителей оральной микробиоты может являться важнейшим показателем эффективности применяемой терапии.

5. По сравнению с предложенными критериями, аэробная и анаэробная

составляющая микробиоты гены резистентности, индексы гигиены и здоровья пародонта (ПМА по С. Parma, ПИ по А. Russel; ИК – SBI) имеют меньшее значение в оценке динамики и клинической эффективности терапии хронического пародонтита.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для практической работы врачей рекомендуем использовать следующие критерии оценки эффективности терапии пародонтитов:

1. Определение подвижности зубов и глубины пародонтального кармана. Данные клинические показатели являются динамичными, обратимыми и отражают состояние пародонтальных тканей. Инструментальное и аппаратное измерение делают эти показатели объективными.
2. Количественную оценку основных представителей пародонтопатогенной микрофлоры (*P. Endodontalis*; *T. Denticola*; *T. Forsythia*; *P. Intermedia*; *F. nucleatum*). Наиболее значимыми на наш взгляд являются: *P. Endodontalis*; *P. Intermedia*; *F. nucleatum*
3. Вышеперечисленные обследования необходимо проводить до лечения и после с 14 суток от начала лечения..
4. Считать терапию эффективной при снижении количественных показателей не менее чем у трех видов микроорганизмов в 100 и более раз.
5. Необходимо так же определять гены СТХ-М, МесА, ТЕМ, кодирующие устойчивость микробиоты к пенициллинам и цефалоспорином и использовать их в оценке эффективности нехирургической терапии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Оценка состояния тканей полости рта у пациентов после удаления ретинированных третьих нижних моляров по показателям смешанной слюны/ Вавилова Т.П. Островская И.Г., Мяндиев М.С., Духовская Н.Е. // “Cathedra”, журнал Стоматологическое образование 2015. – №53, С.28 - 31;
2. Состояние микробиоценоза и антибиотикорезистентность enterobacteriaceae в тканях пародонта при пародонтите и периодонтите. Мудров В.П., Стамм М.В., Мяндиев М.С., Нелюбин В.Н. // **Медицинский алфавит.** – 2016. – Т. 3. – № 19, С. 52

3. Выявление антибиотикорезистентности микроорганизмов при бактериально-вирусном инфицировании слизистой оболочки желудочно-кишечного и урогенитального тракта. В.П. Мудров, И.С. Фоменков, **М.С. Мяндиев**, В.Н. Нелюбин, В.М. Стамм, С.Г. Утенкова, О.А. Милов, Г.И. Макаренко, Т.В. Черненко, Д.А. Шмаров // **Медицинский алфавит**. – 2016. – Т. 3. – № 19, С. 52 - 53
4. Цитокиновая регуляция воспаления при бактериально-вирусной коинфекции в тканях пародонта при пародонтите и периодонтит. Мудров В.П., **Мяндиев М.С.**, Иванов С.Ю., Лолокова Н.В., Нелюбин В.Н. // **Цитокины и воспаление**. – 2016. – Т. 15. – № 2. – С. 212 - 215 (Scopus)
5. Исследование микробиоценоза в тканях пародонта при пародонтите и периодонтите. Мудров В.П., **Мяндиев М.С.**, Нелюбин В.Н., Иванов С.Ю. // **Медицинский алфавит**. – 2017. Т. 1. – № 1 (298), С. 46 - 49
6. Лабораторная диагностика пародонтита при использовании иммуотропной терапии. Мудров В.П., Казаков С.П., Нелюбин В.Н., Воробьева Е.С., Лысюк Е.Ю., **Мяндиев М.С.**, Иванов С.Ю. // **Лабораторная служба**. – 2017. – Т.6. – № 3, С. 26
7. Частота лекарственной устойчивости микроорганизмов и гены антибиотикорезистентности в условиях стационарного и амбулаторнополиклинического учреждений. Мудров В.П., Утенкова С.Г., Милов О.А., Нелюбин В.Н., **Мяндиев М.С.**, Макаренко Г.И., Черненко Т.В., Иванов С.Ю. // **Медицинский алфавит**. – 2017. – Т. 1. – № 7 (304), С. 36 - 39
8. Immunotropic hike in the diagnosis and therapy of bacterial-viral periodontal microflora. V.P. Mudrov, V.N. Nelyubin, **M.S. Myandiev** et al. // IFCC Wordlab. Durban 2017, 22 – 25 October, Poster Abstracts – IFCC WorldLab 2017 – Durban, South Africa, 22-25 October 2017 • DOI 10.1515/cclm-2017-7063 Clin Chem Lab Med 2017; 55, Special Suppl, P. S1559;
9. Особенности цитокинового профиля при пародонтите в условиях микст-инфекций. В.П. Мудров, В.Н. Нелюбин, **М.С. Мяндиев**, Н.В. Лолокова, С.Ю. Иванов // Материалы Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием 27 - 29 марта 2017, Москва, С.192;
10. Тактика лабораторной диагностики антибиотикорезистентности микроорганизмов при гнойно-септических осложнениях. В.П. Мудров, М.В. Стамм, О.А. Милов, С.Г. Утенкова, **М.С. Мяндиев**, В.Б. Брезицкий, Г.И. Макаренко, Т.В. Черненко, В.Н. Нелюбин, С.Ю. Иванов // Молекулярная диагностика. 2017, сборник трудов IX

Всероссийской научно-практической конференции с международным участием – 2017, С.234 - 235;

11. Патогенная микрофлора и гены антибиотикорезистентности при пародонтите. **М.С. Мяндиев**, В.П. Мудров, М.В. Стамм, О.А. Милов, В.Н. Нелюбин, С.Ю. Иванов // Молекулярная диагностика 2017, сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием – 2017, С.482 - 483;

12. Применение ростовых факторов в терапии пародонтита/ В.П. Мудров В.Н. Нелюбин, Е.С. Воробьева, Е.Ю. Лысюк, **М.С. Мяндиев**, И.С. Фоменков, С.Ю. Иванов // **Медицинская иммунология.** – 2018, Т. 20, № 3, С. 439 - 444

13. Перспективный подход в диагностике хронических воспалительных заболеваний пародонта / **М.С. Мяндиев**, В.Н. Нелюбин, Р.В. Крашенинникова, В.П. Мудров, С.Ю. Иванов // Материалы научно-практических конференций в рамках V Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2019). Сборник тезисов. – 2019, С. 115 -116.