

*На правах рукописи*

***КУЗНЕЦОВ Кирилл Владимирович***

**Оптимизация подготовки пациентов к амбулаторным  
хирургическим операциям и контроль эффективности  
лечения в послеоперационном периоде**

**14.01.14. - стоматология (медицинские науки)**

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

МОСКВА – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Панин Андрей Михайлович**

**Научный консультант:**

Заслуженный работник высшей школы Российской Федерации,

доктор медицинских наук, профессор

**Царев Виктор Николаевич**

**Официальные оппоненты:**

**Тарасенко Светлана Юрьевна** - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра хирургической стоматологии, заведующая кафедрой

**Лепилин Александр Викторович** доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра стоматологии, хирургической и челюстно-лицевой хирургии, заведующий кафедрой

**Ведущая организация:**

Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России (МЗ РФ)

Защита диссертации состоится «    » \_\_\_\_\_ 2019 г. в «    » часов на заседании диссертационного совета Д 208.041.07 при ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России по адресу 127006 Москва ул. Долгоруковская д.4 лекционный зал им. Н.А.Семашко

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России (127206 Москва ул. Вучетича д.10а) и на сайте <http://dissov.msmsu.ru>

Автореферат разослан «    » \_\_\_\_\_ 2019 года

**Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук, доцент**

**Дашкова Ольга Павловна**

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Воспалительные осложнения амбулаторных стоматологических хирургических вмешательств в полости рта остаются серьёзной проблемой хирургической стоматологии [Робустова Т.Г., 2004; 2010; Тарасенко С.В. с соавт., 2014; Олесова В.Н. с соавт., 2015; Лепилин А.В. с соавт., 2016; Панин А.М. с соавт., 2017; López-Piris R e.a., 2007]. Почти 80% людей проявляют клинические признаки заболевания пародонта и от 20% до 40% имеют периодонтит. Эти инфекционные процессы одонтогенной природы могут приводить к множественным осложнениям, как местным, так и системным [Flynn T. e.a., 2008].

Бактерии, которые играют роль в развитии осложнений, в основном, являются представителями резидентной (эндогенной) микробиоты. Важной особенностью этих микробов является способность формировать биоплёнку в ране и высокая частота устойчивости к антибактериальным препаратам и антисептикам [В.Н. Царёв, 2013; 2018; Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В., 2016, 2018; Ипполитов Е.В., 2018; R.J. Lamont e.a., 2010; V. Chuvilkin, 2017].

По данным литературы, развитие воспалительных осложнений в хирургической стоматологии обусловлено травмой, и, как следствие, - нарушением микроциркуляции, развитием оксидативного стресса и дисбаланса механизмов антиоксидантной системы при наличии агрессивной микрофлоры и снижения иммунологической реактивности организма больных [Ахмедов Г.Д., 2009; 2014; Shinde A. e.a., 2012]. Однако научные исследования в этой области все еще недостаточно сфокусированы из-за отсутствия разработанных стандартов, а окончательные выводы об их безопасности и эффективности не могут быть проанализированы ввиду значительной разнородности и противоречивости полученных результатов.

Как в плазме крови, так в слюне и тканях, свободные радикалы и реакционно способные виды кислорода / азота (ROS / RNS) играют важную роль в редокс-зависимой сигнализации и необходимы для физиологических функций [Valko et al.,

2007]. Но с другой стороны, чрезмерное производство свободных радикалов, ассоциированных с операционным (хирургическим) стрессом или развитием вторичной инфекции в ране может привести к дисбалансу триггерных механизмов со сдвигом в сторону преобладания окислителей и альтерации тканей [Sies, 1997].

### **Степень разработанности темы исследования**

Известно, что различные антиоксидантные факторы, прежде всего, ферменты, такие как супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза присутствуют в слюне и оказывают протективное действие [Battino et al., 2002]. Слюна в этом плане является первой линией защиты от свободных радикалов [Amerongen and Veerman, 2002; Battino et al., 2002].

Что касается ферментных механизмов, то они изучены гораздо хуже [Г.П. Тер-Асатуров с соавт., 2010]. К ним относят низкомолекулярные антиоксиданты - глутатион, соотношение SS/SH групп, аскорбиновую и мочевую кислоты, мелатонин, малоновый диальдегид, некоторые другие компоненты метаболизма, которые могут реализовать свою нейтрализующую активность в отношении избытка радикалов и благоприятно воздействовать на развитие воспалительной реакции [Г.Д. Ахмедов, 2014; Balaji et al., 2015].

Многие вопросы взаимосвязи клинической картины послеоперационного периода, отдельных компонентов антиоксидантной системы (АОС) и микробной экологии послеоперационной раны в условиях разных методов лечения остаются недостаточно изученными. Среди них заслуживает внимания обоснование применения такого метода комплексного воздействия на организм как фотодинамическая терапия (ФДТ). Поэтому перед нами была поставлена следующая цель исследования.

**Цель исследования:** повышение эффективности диагностики и комплексного лечения воспалительных осложнений в амбулаторной хирургии головы и шеи с использованием фотодинамической терапии, как фактора воздействия на триггерные механизмы этиологии и патогенеза воспаления.

## Задачи исследования

1. Выявить маркерные показатели риска амбулаторных хирургических операций внутрикостной дентальной имплантации, удаления 3-го моляра, цистэктомии по данным клинических, микробиологических и биохимических методов оценки состояния антиоксидантной системы гомеостаза ротовой полости.
2. Установить различия микробиоты очага воспаления в области послеоперационной раны при разных видах амбулаторных хирургических операций: дентальной имплантации, удаления 3-го моляра, цистэктомии.
3. Провести экспериментальное моделирование кривых роста бактериальных и грибковых популяций в автоматическом режиме и дать оценку влияния фотодинамического воздействия по отношению к основным патогенам-возбудителям воспалительных осложнений амбулаторных хирургических операций.
4. Оценить динамику факторов антиоксидантной защиты (неферментного звена) и цитокинового звена иммунитета на протяжении послеоперационного периода при амбулаторных хирургических операциях и сопоставить результаты микробиологических, молекулярных и биохимических методов исследования.
5. Дать клинико-лабораторную оценку эффективности фотодинамической терапии как метода оптимизации профилактики и лечения воспалительных осложнений в аспекте микробиологии и оксидативного стресса при амбулаторных хирургических операциях.

## Научная новизна

1. Впервые определены показатели риска развития осложнений до и после проведения амбулаторных хирургических операций внутрикостной дентальной имплантации, удаления 3-го моляра, цистэктомии основанные на выявлении с помощью ПЦР-диагностики пародонтопатогенных бактерий *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans* в сочетании с нарушениями неферментного звена антиоксидантной системы и мукозального иммунитета, выражающимися в снижении тиолдисульфидного коэффициента (ТДК), увеличении содержания малонового диальдегида (МДА) и цитокинов, преимущественно, за счёт IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ .

2. В экспериментальных исследованиях *in vitro* получены принципиально новые данные о бактериостатическом действии фотодинамической терапии на ряд представителей микробиоты полости рта, включая наиболее вирулентный вид - *P. gingivalis*, а также представителей дрожжевых грибов *Candida*, которые подтверждены результатами клинико-лабораторных исследований, свидетельствующих о снижении частоты и количества колонизации послеоперационной раны в анатомической области головы и шеи возбудителями пародонтопатогенной группы.

3. Предложены качественные и количественные параметры, характеризующие микроэкологию полости рта, на основе которых усовершенствованы схемы клинико-лабораторной диагностики, прогнозирования и лечения пациентов, которым проводятся амбулаторные хирургические операции.

4. Обосновано, что предложенная схема фотодинамической терапии не оказывает отрицательного влияния на состояние антиоксидантной системы и местного иммунитета полости рта, что обеспечивает повышение эффективности консервативного лечения в послеоперационном периоде.

### **Научно-практическая значимость**

На основании полученных данных усовершенствованы методики диагностики, прогнозирования и лечебно-профилактических мероприятий в отношении развития инфекционно-воспалительных осложнений после хирургических стоматологических операций в анатомической области головы и шеи, оптимизирована подготовка пациентов к амбулаторным операциям и ведение пациентов в послеоперационном периоде с использованием научно обоснованной методики фотодинамической терапии.

Разработанные схемы внедрены в практику работы лечебно-профилактических учреждений стоматологического профиля и используются в хирургической стоматологии для профилактики, прогнозирования и лечения воспалительных осложнений амбулаторных хирургических операций.

Отдельные компоненты клинических, микробиологических и молекулярных методов исследования пациентов, подготовленных к хирургическим вмешательствам

в анатомической области головы и шеи, включены в учебный процесс для практических занятий со студентами на кафедре микробиологии, иммунологии, вирусологии, используются в лекционном курсе для врачей на кафедре хирургии полости рта МГМСУ имени А.И. Евдокимова.

Работа выполнена по плану научно-исследовательских работ МГМСУ (№ госрегистрации 01201277058 по проблеме 30.04; 11.00).

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Степень микробной колонизации послеоперационной раны представителями пародонтопатогенных видов и дисбаланс триггерных механизмов регуляции местного иммунитета полости рта и состояния антиоксидантной системы различна при разных видах амбулаторной патологии полости рта и, соответственно, при выполняемых операциях, что может быть использовано при прогнозировании осложнений и планировании соответствующих профилактических мероприятий.

2. Представители пародонтопатогенных видов бактерий 1-2 порядка и дрожжевые грибы рода *Candida*, играющие роль в воспалительных осложнениях после проведения амбулаторных стоматологических хирургических операций, чувствительны к фотодинамическому воздействию, которое может быть рекомендовано для включения в комплексное лечение во время операции и в послеоперационном периоде.

3. Фотодинамическая терапия способствует сокращению сроков регенерации, снижению количественной обсеменённости потенциальными возбудителями, включая пародонтопатогенные виды 1-го и 2-го порядка, грибы кандиды и не оказывает отрицательного влияния на антиоксидантную ёмкость и состояние антиоксидантной системы плазмы крови в целом.

### **Соответствие паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.14. – стоматология (амбулаторная хирургия головы и шеи).

## **Личный вклад автора**

Личный вклад автора заключается в организации процесса обследования и дополнительных консультаций всех пациентов, самостоятельном осмотре 143 обследованных пациентов и заполнении их медицинских карт, личном проведении различных видов хирургического лечения, которые составили предмет настоящего исследования (всего 72 операции), включая традиционные методы консервативного лечения и фотодинамическую терапию.

Диссертант самостоятельно участвовал в инструментально-лабораторном обследовании больных, лично проводил взятие материала для микробиологических и молекулярных исследований, принимал активное участие в их проведении, разработке дизайна и проведении экспериментальной части исследования.

Автор диссертационной работы самостоятельно анализировал материал, готовил патентно-информационную документацию и проводил статистическую обработку полученных данных, готовил материал для публикаций, автореферат и рукопись диссертации.

## **Апробация работы**

Основные положения диссертации были представлены и одобрены на:

- Всероссийском стоматологическом форуме с международным участием «Наука, образование и практика стоматологии» ДЕНТАЛ-РЕВЮ (Москва, 2015);
- Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию образования в МГМСУ им. А.И. Евдокимова кафедры общей гигиены. «Инновационные здоровые берегающие технологии в медицине и образовании». - Москва 19 мая 2016;
- Всероссийских стоматологических форумах с международным участием «Наука, образование и практика стоматологии» ДЕНТАЛ-РЕВЮ (Москва, 2016 и 2017);
- Совместной научно-практической конференции кафедры хирургии полости рта, кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, лаборатории молекулярно-биологических исследований, лаборатории иммунологии НИМСИ

ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ, Москва, 2018 (Протокол № 9 от 18.12.2018.).

### **Публикации**

По теме диссертационной работы опубликовано 9 печатных работ, включая 7 – в рецензируемых журналах перечня ВАК Минобрнауки России.

### **Структура диссертации**

Диссертация написана по традиционному плану. Содержит «Введение», главу «Дизайн, материалы и методология исследования», 3 главы собственных результатов, включая обсуждение результатов, заключение, выводы и практические рекомендации. Иллюстрирована таблицами и рисунками.

Список литературы представлен отечественными и зарубежными работами по рассматриваемой тематике, преимущественно за последние 5-10 лет, включает 319 источников (84 отечественных и 235 – иностранных).

### **Дизайн, материалы и методология исследования**

Для реализации поставленной цели и задач исследования проведено углублённое изучение результатов клинико-лабораторных данных у обследованного массива пациентов - всего 143 человека (58 мужчин и 85 женщин), которые были подготовлены для выполнения различных амбулаторных стоматологических (хирургических) вмешательств в полости рта (челюстно-лицевая область).

У всех респондентов брали информированное согласие для обеспечения легитимности выполнения клинических и лабораторно-клинических исследований. Группы обследуемых формировали методом случайной выборки, на основании диагноза и следующих установленных критериев.

*Критерии включения* в настоящие исследования: показания к проведению амбулаторных стоматологических операций в полости рта, соответственно выбранным группам по виду оперативного вмешательства, к которым отнесены: дентальная имплантация, удаление 3-го моляра, цистэктомия, синуслифтинг. Все пациенты относились к трём возрастным группам в соответствии с критериями ВОЗ: до 29 лет, 30-39 лет и 40-49 лет.

*Критерии исключения:* возрастные группы от 50 лет и старше. Старшие возрастные группы не включались, учитывая существенные отличия профиля функционирования антиоксидантной системы (АОС). Также из исследования были исключены беременные женщины, пациенты, имеющие хронические воспалительные заболевания (стадия обострения), соматическую и (фаза декомпенсации), эндокринные и онкологические заболевания.

*Критерии невключения:* отказ от участия в исследовании или выбытие пациента, не полностью заполненная карта; отсутствие записей о контрольных осмотрах; отсутствие контрольных рентгенограмм.

Распределение больных на группы проводили с применением метода рандомизации на основную (группа 1) и контрольную группы (группа 2), которые в свою очередь подразделяли на подгруппы А, Б, В соответственно видам оперативных вмешательств: пациенты с дентальной имплантацией составили подгруппы 1А и 2А, пациенты с ретенцией и дистопией «зуба мудрости» – 2А и 2Б; пациенты с кистогранулемой – 3А и 3Б (табл. 1).

Перед выполнением операции анализировали результаты клинического, рентгенологического и лабораторного исследования (включая оценку микробиоты очага, антиоксидантного статуса и местного иммунитета), учитывали противопоказания к оперативному лечению.

**Таблица 1**

**Распределение по полу и возрасту пациентов, обследованных до и после хирургических вмешательств в полости рта**

Группа	Всего	Мужчины	Женщины	18-29 лет	30-39 лет	40 и более
<b>Основные подгруппы исследования (А):</b>	<b>70</b>	<b>29</b>	<b>41</b>	<b>23</b>	<b>30</b>	<b>17</b>
Подгруппа 1А: дентальная имплантация	30	12	18	4	15	11
Подгруппа 2А: перикоронит дистопированного или	19	9	10	11	5	3

ретинированного «зуба мудрости»						
Подгруппа 3А: цистэктомия	21	8	13	8	10	3
<b>Подгруппы сравнения - контрольные (Б):</b>	<b>73</b>	<b>29</b>	<b>44</b>	<b>22</b>	<b>31</b>	<b>20</b>
Подгруппа 1Б: дентальная имплантация	30	12	18	6	14	10
Подгруппа 2Б: перикоронит дистопированного или ретинированного «зуба мудрости»	22	10	12	11	8	3
Подгруппа 3Б: цистэктомия	21	7	14	5	9	7
<b>Итого</b>	<b>143</b>	<b>58</b>	<b>85</b>	<b>45</b>	<b>61</b>	<b>37</b>

Пациентам подгрупп А (основных – 1А, 2А, 3А) проводили традиционную периоперационную антибактериальную профилактику (амоксиклав/клавуланат внутримышечно за 40-50 минут до операции), а также промывали рану непосредственно после проведения операции раствором антисептика (хлоргексидина биглюконат, 2 % раствор). Пациенты этих подгрупп получали фотодинамическую терапию диодным устройством «Fotosan-360» (3-х сеансов по 40 секунд).

Пациентам подгрупп сравнения Б (контрольных– 1Б, 2Б, 3Б) фотодинамическую терапию не проводили. Выполняли периоперационную антибактериальную профилактику (амоксиклав/клавуланат внутримышечно за 45 минут до операции) и промывание послеоперационной раны хлоргексидина биглюконатом, 2% раствором.

Продолжительность клинических наблюдений за пациентами составляла 7-10 суток. Эффективность комплексного лечения оценивали по результатам клинических и лабораторных методов исследования до 30 суток.

*Лабораторные методы* микробиологического, молекулярного и биохимического исследования осуществляли на базе кафедры микробиологии и

лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова. Алгоритм обследования пациентов включал: взятие материала для посева на питательные среды (стандартным тампоном из зоны операционной раны в пробирку с транспортной средой Стюарта), для ПЦР-диагностики (в пробирку типа «Эппендорф» с 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия); последующее бактериологическое исследование в аэробных и анаэробных условиях, а также проведение ПЦР, согласно существующим требованиям и рекомендациям [А.С. Лабинская с соавт., 2012; 2014].

Для экспериментального обоснования антимикробной активности фотодинамического воздействия (ФДВ) контролировали кривые роста микробных популяций в чистой культуре с помощью автоматизированного аппаратного комплекса «Реверс-Спиннер RTS-1» (BioSan, Латвия), который позволяет учитывать минимальные антимикробные эффекты по торможению роста микробов в режиме реального времени. В данном варианте оценивали антимикробное действие фотодиодного устройства Fotosan 360 (Англия) с использованием в качестве фотосенсибилизатора толуидинового синего (син.: толлония хлорид) высокой вязкости [Подпорин М.С. с соавт., 2018].

**Штаммы.** В исследовании использовали штаммы микробов (клинические изоляты), выделенных при хроническом пародонтите в фазе обострения из музея чистых культур кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии: *Streptococcus sanguinis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*, *Candida krusei*.

Для определения состояния антиоксидантной системы у пациентов (АОС) и перекисного окисления липидов (ПОЛ), анализа и трактовки полученных данных, мы руководствовались рекомендациями В.В. Шулакова (2006) и Г.Д. Ахмедова (2012).

**Комплексное лечение** пациентов обследуемой группы и группы сравнения до оперативного вмешательства включало: санацию полости рта, обучение пациентов рациональной гигиене, удаление зубных отложений, при необходимости - пародонтологическое лечение.

При хирургическом лечении пациентов основных групп (1А, 2А, 3А) фотоактивируемую дезинфекцию зоны оперативного вмешательства проводили непосредственно перед выполнением хирургической манипуляции (периоперационно), повторно по её завершении (перед наложением швов), и двукратно - в послеоперационном периоде с интервалом в 2 дня (3-е сутки и 5-е сутки после операции). Для проведения фотоактивируемой дезинфекции слизистую оболочку густо смазывали фотосенсибилизатором высокой вязкости (толлония хлорид), выдерживали до 60 секунд, затем облучали светом лампы Fotosan 360 (Великобритания) в течение 40 секунд, используя широкий наконечник BLUNT с затупленным концом и плотно прижимая его к поверхности десны или слизистой оболочки. После проведённой процедуры фотосенсибилизатор смывали изотоническим раствором хлорида натрия и выполняли необходимую хирургическую операцию.

*Статистическая обработка* результатов проведена с помощью компьютерной программы Biostat 9.0. методом параметрической статистики с определением средней величины, ошибки средней величины и вероятности различий Р (за достоверную разницу принимали значения  $P < 0,05$ ), а также с помощью непараметрического критерия Крускала-Уоллиса (для малой выборки данных) или Манна-Уитни ( $p \leq 0,05$ ).

## **СОДЕРЖАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

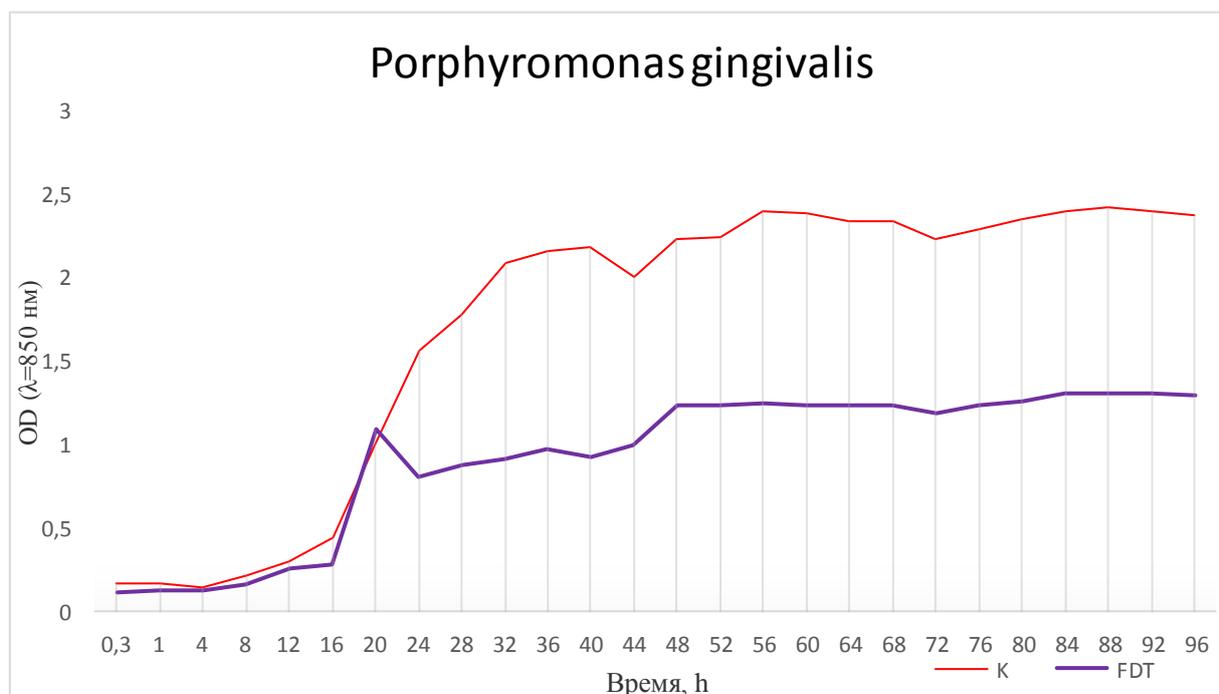
### **Экспериментальное обоснование применения фотодинамической терапии для лечения пациентов**

Оценку динамики роста микроорганизмов проводили в двух параллелях, что отражалось на графиках кривых роста бактериальных популяций для каждого вида при использовании ФДВ с фотосенсибилизатором толлония хлорид и без такового (контроль). В качестве контроля оценивали рост соответствующего штамма интактных бактерий, до наступления логарифмической фазы роста, которая происходила через 2-3 часа и достигала максимума с переходом в стационарную фазу роста через 12-18 часов от начала культивирования, в зависимости от вида

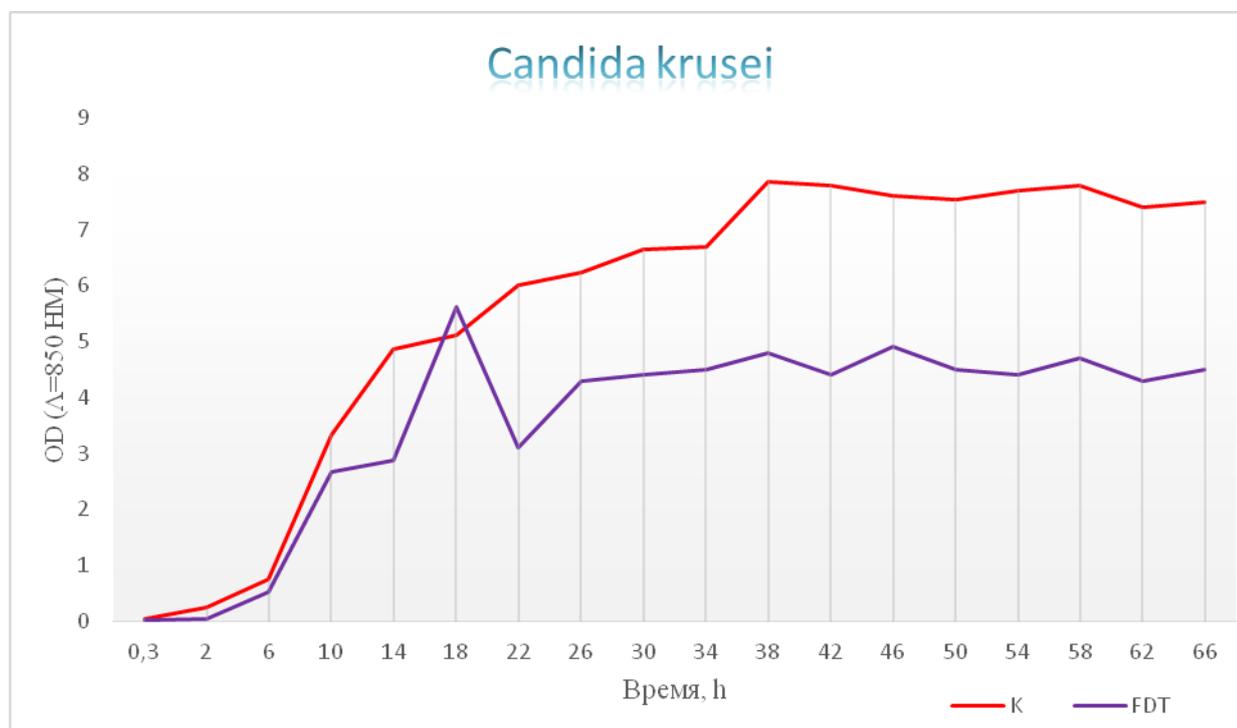
микроорганизма. Во всех исследованных случаях (рис. 1-2) показатели стационарной фазы роста в контроле были достоверно выше, чем при ФДВ.

На рис. 1 представлены кривые роста штамма клинического изолята *Porphyromonas gingivalis*. Кривая роста данного штамма в контроле (без воздействия) характеризовалась медленным увеличением накопления биомассы в течение 16 часов, а затем резким переходом в фазу логарифмического роста двумя скачками концентрации в период 20 - 32 час (концентрация 2,0 OD) и 44 - 48 час (концентрация 2,2 OD), а затем переходом в стационарную фазу роста. Максимум роста с переходом в стационарную фазу отмечен через 48-50 час культивирования (концентрация составила 2,5 OD). Этот максимум роста сохранялся в течение 96 часов наблюдения, то есть культура продолжала воспроизводиться на высоком уровне. При ФДВ, напротив, наблюдали снижение оптической плотности на 2-2,5 OD на протяжении всего периода наблюдения (96 час).

Кривые роста штаммов дрожжевых грибов (рис. 2) отличались довольно короткой лаг-фазой с переходом в фазу логарифмического роста на 6-й час культивирования.



**Рис. 1. Кривые роста штамма клинического изолята *Porphyromonas gingivalis* при ФДВ (FDT) и в контроле (К)**



**Рис. 2. Кривые роста штамма клинического изолята *Candida krusei* при ФДВ (FDT) и в контроле (К)**

Логарифмическая фаза проходила с 6 до 22 час с максимумом роста около 6,0 OD. На 34 час культивирования наблюдался явный подъем кривой в стационарной фазе до 8,0 OD. Через 66 час наблюдения культура продолжала воспроизводиться на высоком уровне. Кривая роста при ФДВ была существенно ниже (на 3,0-3,5 OD) и отличалась двугорбым характером логарифмической фазы. При этом уровень кривой в стационарную фазу был существенно ниже, чем максимальная концентрация, отмеченная в конце логарифмической фазы. Далее (срок наблюдения 66 час) культура продолжала воспроизводиться, но на низком уровне с признаками тенденции к дальнейшему снижению.

Таким образом, нам впервые удалось охарактеризовать кривые роста штаммов – клинических изолятов, выделенных при патологии полости рта и доказать, что

ФДВ приводит к существенным потерям в количестве жизнеспособных клеток микробной популяции, которая далее воспроизводится, но на низком уровне (бактериостатический эффект).

### **Клинико-лабораторная характеристика групп сравнения при амбулаторных хирургических операциях с применением фотоактивируемой дезинфекции раны**

Сравнительная оценка клинических признаков воспаления в динамике после проведения оперативных вмешательств в основных группах (1А, 2А и 3А), которым проводили фотодинамическую обработку, и контрольных (1Б, 2Б и 3Б), получавших традиционное лечение, выявила достоверное сокращение средних сроков воспалительной реакции по таким параметрам как болевой синдром, отёк мягких тканей, реакция регионарных лимфатических узлов. Течение послеоперационного периода при ФДТ, характеризовалось более коротким периодом исчезновения контролируемых клинических симптомов и отсутствием воспалительных осложнений. В тоже время, в группах пациентов, получавших традиционное лечение, отмечено не только более длительное течение воспалительной реакции (более 5 суток), но также единичные осложнения, которые были устранены лишь при изменении схемы лечения (назначения антибиотика с учётом чувствительности микрофлоры).

При сравнительной **характеристике состава микробиоты** воспалительного очага при различных амбулаторных операциях установлены определённые различия. Так, при дентальной имплантации, которая выполнялась при относительно интактных зубах и после соответствующих гигиенических мероприятий, доминирующей флорой являлись представители стабилизирующих видов, прежде всего, микроаэрофильные стрептококки (52%) и коринебактерии (23%). При воспалительном процессе, связанном с дистопией или ретенцией третьих моляров, существенной была частота выделения облигатно-анаэробных пародонтопатогенных видов (28%), поддерживающих перикоронит. При длительном хроническом воспалении, приведшем к образованию кистогранулемы, выделялись не только пародонтопатогены (30%), но также актиномицеты (38%) и

дрожжевые грибы (12%). Во всех группах проведение ФДТ способствовало снижению микробной обсеменённости, вплоть до полной эрадикации некоторых видов, по сравнению с группами с традиционным лечением.

Наиболее выраженные **нарушения функционирования АОС** отмечены нами при перикоронитах, минимальные – при проведении дентальной имплантации. При дентальной имплантации антиоксидантная ёмкость плазмы крови была понижена незначительно (в 1,7 раза), в то время как при перикороните и кистогранулёме – примерно в 2 - 2,3 раза, что, может быть объяснено хроническим воспалительным процессом у пациентов двух последних групп. Установлены факторы риска выражающиеся в снижении тиолдисульфидного коэффициента (менее  $2,0 \pm 0,2$ ), резком увеличении концентрации малонового диальдегида (выше  $3,8 \pm 0,2$  мкмоль/л) и увеличении антиоксидантной ёмкости плазмы крови (выше  $30,2 \pm 0,2$  %) на 3-и сутки после операции ( $p_{k-u} < 0,01-0,02$  по критерию Крускала-Уоллиса).

Вместе с тем, при амбулаторных видах хирургического вмешательства, когда травматизация тканей не значительна, а признаки оксидативных нарушений не резко выражены, ФДТ может рассматриваться как перспективный метод лечения, не приводящий к нарушениям функционирования АОС или, как было показано в нашем исследовании, коррегирующий последствия операционного оксидативного стресса.

При сравнительной оценке концентрации провоспалительного цитокинов установлено следующее (табл. 2).

**Таблица 2**

**Скрининг содержания цитокинов при различных видах амбулаторной хирургической патологии (пкг/мл)**

Вид цитокина	Здоровые зубы	Дентальная имплантация	Удаление 3-го моляра	Цистэктомия
IL-1 $\beta$	$4,6 \pm 2,1$	$6,5 \pm 2,3$	$64,7 \pm 25,4^{**}$	$13,96 \pm 3,31^{**}$
IL-4	$23,5 \pm 2,3$	$21,2 \pm 6,8$	$30,6 \pm 3,0$	$27,5 \pm 2,3$
IL-6	$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	$3,68 \pm 0,12^{**}$	$3,72 \pm 0,22^{**}$
TNF- $\alpha$	$0,85 \pm 0,55$	$0,96 \pm 0,50$	$3,34 \pm 0,58^{**}$	$1,92 \pm 0,88^{**}$
INF- $\gamma$	$13,57 \pm 2,15$	$10,9 \pm 3,1$	$62,4 \pm 12,3^{**}$	$31,7 \pm 3,1^{**}$
IL-8	$18,7 \pm 5,0$	$20,64 \pm 6,0$	$28,6 \pm 1,8^{**}$	$23,7 \pm 4,3^{**}$
Суммарное содержание	$13,57 \pm 7,15$	$63,88 \pm 34,56$	$436,82 \pm 89,1^{**}$	$182,54 \pm 39,71^{**}$

Примечание: \*\* достоверное увеличение значений по сравнению с контролем (здоровыми пациентами) ( $p \leq 0,01$  - для критерия Крускала-Уоллиса)

При дентальной имплантации не отмечалось достоверного изменения IL-1 $\beta$ , в то время как в раневом отделяемом при цистэктомии среднее содержание IL-1 $\beta$  было статистически достоверно значимо примерно в 3 раза выше, а при перикороните – многократно выше –  $64,7 \pm 25,4$  пг/мл. Это указывает на наличие резкого локального воспаления, в отличие от операции дентальной имплантации.

В отношении цитокина IL-4 статистически достоверной разницы показателей ни в одной группе сравнения не выявлено, а в отношении другого провоспалительного цитокина IL-6 разница была незначительной и касалась группы пациентов с перикоронитом и кистогранулемой, то есть отмечалась при хроническом воспалительном процессе.

Средние уровни содержания TNF- $\alpha$  оказались диагностически значимыми для группы пациентов с ретинированным 3-м моляром (перикоронит) и цистэктомией (кистогранулёма) и были достоверно выше, чем при имплантации. При удалении 3-го моляра и цистэктомии концентрация TNF- $\alpha$  была почти в 2 и 4 раза выше, чем у здоровых зубов и в области стабильных имплантатов – в 3,5 ( $p \leq 0,05$ ).

Противовоспалительные цитокины - IL-8 и INF- $\gamma$  подтверждали картину хронического воспаления и были статистически значимо повышены только в группах пациентов с перикоронитом и кистогранулемой.

Важным вопросом, который ранее не рассматривался другими авторами, являлась оценка динамики содержания цитокинов в процессе проведения комплексного лечения в послеоперационном периоде (табл. 3).

Оценка этого феномена позволяла установить принципиальные различия между терапией традиционной и ФДТ и оценить прогностическую значимость отдельных видов цитокинов при данной патологии. Проведённый анализ позволил выявить диагностическую и прогностическую значимость только двух цитокинов: IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ , которые обычно характеризуются как провоспалительные, то есть сопровождающие процесс воспаления.

Таблица 3

**Прогностически значимая разница содержания цитокинов при сравнении ФДТ и традиционного лечения амбулаторной хирургической патологии (пкг/мл)**

Вид цитокина / сроки лечения	Здоровые пациенты	Дентальная имплантация	Удаление 3-го моляра	Цистэктомия
<b>IL-1<math>\beta</math></b> 1-е сутки	<b><u>4,6 ± 2,1</u></b>	26,5 ± 2,3	64,7 ± 25,4	13,96 ± 3,31
3-и сутки Традиционное ФДТ	-	29,8 ± 2,1 37,5 ± 2,5+	62,5 ± 23,8 96,8 ± 23,8+	45,6 ± 8,34** 84,2 ± 7,23+
5-е сутки Традиционное ФДТ	-	6,5 ± 2,1* 5,8 ± 2,5*	8,4 ± 3,72 6,8 ± 3,32*	9,6 ± 2,21 4,2 ± 2,23*
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> 1-е сутки	<b><u>0,85 ± 0,55</u></b>	0,96 ± 0,50	3,34 ± 0,58	1,92 ± 0,88
3-и сутки Традиционное ФДТ	-	1,05 ± 0,5 2,13 ± 0,4+	3,41 ± 0,60 4,84 ± 0,54+	4,57 ± 0,97** 4,96 ± 0,78+
5-е сутки Традиционное ФДТ	-	0,95 ± 0,5* 0,92 ± 0,4*	2,84 ± 0,43 1,19 ± 0,50*	3,32 ± 0,56 1,26 ± 0,67*

Примечание: \* нормализация значений в процессе лечения, \*\* достоверное увеличение значений по сравнению с уровнем данной группы до лечения, + статистические различия значений в основной (ФДТ) и сравниваемой (традиционная) группах ( $p \leq 0,01$  - для критерия Крускала-Уоллиса)

В частности, оказалось, что на 3-и сутки после операции наблюдалось статистически достоверно значимое резкое увеличение как IL-1 $\beta$ , так и TNF- $\alpha$  при ФДТ, в то время как при традиционном лечении увеличение (причём, менее выраженное) отмечено только в группе с цистэктомией. Однако на 5-е сутки картина кардинально менялась – при ФДТ наблюдалась полная нормализация параметров, а при традиционном лечении это имело место быть только при имплантации. При этом не выявлено достоверных различий содержания цитокинов между участками с установленными имплантатами и интактными зубами (без признаков пародонтита).

## ВЫВОДЫ

1. Маркерными показателями риска развития осложнений до проведения амбулаторных хирургических операций внутрикостной дентальной имплантации, удаления 3-го моляра, цистэктомии являются: выявление с помощью ПЦР-диагностики пародонтопатогенных бактерий 1 порядка: *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans* и нарушения неферментного звена антиоксидантной системы по данным определения тиолдисульфидного коэффициента и малонового диальдегида. После проведения амбулаторных хирургических операций показателями риска развития осложнений следует считать признаки воспаления послеоперационной раны (боль, отёк, нарушение открывания рта, экссудация) сохраняющиеся более 5-и суток от момента хирургического вмешательства, которые сочетаются с присутствием в области операционной раны патогенных микроорганизмов (анаэробы пародонтопатогенной группы, стафилококк, альфа-зеленящий стрептококк, дрожжевые грибы кандиды) и нарушениями активности антиоксидантной системы, выражающиеся в снижении тиолдисульфидного коэффициента (менее  $2,0 \pm 0,2$ ), резком увеличении концентрации малонового диальдегида (выше  $3,8 \pm 0,2$  мкмоль/л) и увеличении антиоксидантной ёмкости плазмы крови (выше  $30,2 \pm 0,2$  %) на 3-и сутки после операции ( $p_{k-u} < 0,01-0,02$  по критерию Крускала-Уоллиса).

2. Установлено прогностическое значение количественной микробной обсеменённости определёнными группами микробов на 5-е сутки после операции: при перикороните - пародонтопатогенами 1 и 2 порядка выше  $5,5 \pm 0,2$  и  $5,3 \pm 0,5$  соответственно; при цистэктомии - пародонтопатогенами 2 порядка и грибами кандиды – выше  $5,5 \pm 0,4$  и  $5,1 \pm 0,4$  соответственно; при дентальной имплантации – пародонтопатогенами 2 порядка выше  $5,1 \pm 0,2$  для прогноза развития воспалительных осложнений (различия с благоприятным прогнозом статистически достоверны по критерию Манна-Уитни:  $p_{m-u} \leq 0,05$ ). Установлены также качественные различия состава доминирующей микробиоты в основных группах сравнения: при дентальной имплантации, преобладали представители стабилизирующих видов (альфа-зеленящие стрептококки и энтерококки (52%),

коринебактерии (23%). При воспалительном процессе, связанном с дистопией или ретенцией третьих моляров, существенной была частота выделения облигатно-анаэробных пародонтопатогенных видов (включая пародонтопатогены 1 и 2 порядка - 28%). При длительном хроническом воспалении, приведшем к образованию кистогранулемы, выделялись не только анаэробные патогены, но также актиномицеты и дрожжевые грибы (бактерии актиномицетной линии – 38%, альфа-зеленящие стрептококки, энтерококки – 30%, пародонтопатогенные виды – 16%, дрожжевые грибы – 12%).

**3.** В экспериментальном исследовании с использованием моделирования кривых роста популяций основных возбудителей, выделенных при воспалительных осложнениях, доказано бактериостатическое действие фотохимической реакции на *P. gingivalis* и *S. sanguinis*, микостатическое – на *C. albicans* и *C. krusei* и впервые установлено, что фотохимическая реакция приводит к существенным потерям в количестве жизнеспособных клеток микробной популяции, которая далее воспроизводится, но на более низком уровне. Выявлены особенности максимума снижения уровня роста популяций – для грамположительных кокков *S. sanguinis* и грамотрицательных анаэробных бактерий *P. gingivalis* – в 2 раза, для грибов *C. albicans* и *C. krusei* – в 1,4-1,6 раза.

**4.** Дисбаланс триггерных механизмов активности антиоксидантной системы после амбулаторных хирургических операций выражается в достоверном увеличении показателя содержания SS-групп и снижении - SH-групп, приводящим к снижению тиолдисульфидного коэффициента по сравнению с показателями у практически здоровых людей, что является следствием операционного стресса. При дентальной имплантации антиоксидантная ёмкость плазмы крови была понижена незначительно (в 1,7 раза), в то время как при перикороните и кистогранулёме – примерно в 2 - 2,3 раза, что, может быть объяснено хроническим воспалительным процессом у пациентов двух последних группах. Результаты проведенного исследования пациентов, подготовленных к амбулаторным стоматологическим хирургическим операциям: цистэктомии, удаления третьего моляра, свидетельствуют об угнетении

функционального состояния тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы и требует коррекции нарушений.

5. При проведении фотодинамической терапии (экспозиция 40 секунд, толлония хлорид) во всех основных группах отмечено благоприятное течение послеоперационного периода без осложнений воспалительного характера. Фотодинамическая терапия способствует сокращению сроков регенерации, снижению количественной обсеменённости потенциальными возбудителями, включая пародонтопатогенные виды 1 и 2 порядка, грибы кандиды и не оказывает отрицательного влияния на антиоксидантную ёмкость и состояние антиоксидантной системы плазмы крови в целом, что позволяет рассматривать фотодинамическую терапию как эффективный метод немедикаментозного лечения пациентов после амбулаторных хирургических операций. При применении фотодинамической терапии нарушения тиолдисульфидного коэффициента и содержания цитокинов IL-1 $\beta$ , так и TNF- $\alpha$  устраняются быстрее (на 5-7-е сутки), чем при традиционном лечении.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При обследовании пациентов на этапе подготовки к хирургическим операциям необходимо проведение ПЦР-диагностики или микробиологического исследования в условиях анаэробии для выявления возможного присутствия пародонтопатогенных видов бактерий 1 и 2 порядка. В случае обнаружения последних предлагается при проведении предоперационной профессиональной гигиены дополнить санацию пародонта с помощью существующих схем антибактериальной терапии.

2. Для оценки течения воспалительного процесса и прогноза заболевания в случае возникновения осложнений в послеоперационном периоде рекомендуется использовать показатели неферментного звена и состояния антиоксидантной системы. Наиболее удобным для практического использования является метод биохимической оценки содержания SS/SH –групп плазмы крови пациента с расчётом тиолдисульфидного коэффициента, а также определение концентрации малонового диальдегида, что может быть рекомендовано для оценки

функционального состояния антиоксидантной системы и неспецифической резистентности организма при хирургических вмешательствах в полости рта.

3. Для оптимизации профилактики воспалительных осложнений после амбулаторных хирургических операций рекомендуется использовать фотодинамическое воздействие с фотосенсибилизатором толлония хлорид, который наносится на раневую поверхность на 60 секунд. Затем проводится обработка фотодиодным аппаратом низкоинтенсивного лазерного излучения (типа «FotoSan-360»), экспозиция 40 секунд. Для повышения эффективности консервативного лечения в послеоперационном периоде после амбулаторных хирургических операций используют двукратные сеансы облучения с интервалом в 2-е суток (на 3- и 5-е сутки) фотодиодным аппаратом низкоинтенсивного лазерного излучения (типа «FotoSan-360»).

#### **Основные публикации по теме диссертации:**

1. Ахмедов, Г.Д. Применение иммуномодуляторов «ТАМЕРИТ» и «СУПЕРЛИМФ» для профилактики и лечения послеоперационной инфекции при амбулаторных стоматологических операциях в полости рта [Текст] **Кузнецов К.В.,** Панин А.М., Царев В.Н. // Материалы XII итоговой конференции НИМСИ по трансляционной медицине «От науки – к практике» Москва 2012. - С. 50-53.

2. Николаева, Е.Н. Ассоциативные связи пародонтопатогенных видов бактерий I и II порядков в смешанных биопленках у пациентов с периимплантатами [Текст] / Николаева Е.Н., Царев В.Н., Панин А.М., Чувилкин В.И., Ипполитов Е.В., Хитаршвили М.В., **Кузнецов К.В.,** Царева Т.В. // **Стоматология для всех.** - 2014.- № 4.- С. 38-42.

3. Царёв, В.Н. Функциональное состояние тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы при хирургических операциях челюстно-лицевой области и в послеоперационном периоде [Текст] / Царев В.Н., Пономарёва А.Г., **Кузнецов К.В.,** Ахмедов Г.Д., Стаценко Е.А. // **Военно-медицинский журнал.** (Scopus) - 2015. - № 3. - С. 119-122.

4. **Кузнецов, К.В.** Влияние амбулаторных стоматологических операций на состояние тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы [Текст] / **Кузнецов К.В.,** Ахмедов Г.Д., Панин А.М., Пономарёва А.Г. // Ж. **Российская стоматология.** - 2015. - №1 (Т. 8). - С. 90-91.

5. Ахмедов, Г.Д. Динамика параметров тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы после хирургических операций челюстно-лицевой области [Текст] / Ахмедов Г.Д., Панин А.М., **Кузнецов К.В.,** Царёв В.Н. // Ж. **Российская стоматология.** - 2016. - №2(Т.9)-С. 53

6. Завадский, Р.В. Цитокиновая терапия при лечении воспалительных осложнений в стоматологической практике [Текст] / Завадский Р.В., **Кузнецов К.В.,** Царёва Т.В., Ипполитов Е.В., Ахмедов Г.Д. / Ж. **Российская стоматология.** - 2016.- №2(Т.9)-С. 59.

7. Ипполитов, Е.В. Применение препаратов ТАМЕРИТ и СУПЕРЛИМФ в комплексной профилактике инфекционно-воспалительных осложнений (ИВО) в хирургической стоматологической практике [Текст] / Ипполитов Е.В., Царева Т.В., Сударикова Н.Н., **Кузнецов К.В.** // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию образования в МГМСУ кафедры общей гигиены. «Инновационные здоровье сберегающие технологии в медицине и образовании». - Москва 19 мая 2016. - С. 192-194.

8. Лабазанов, А.А. Экспериментальное обоснование и клиническое применение оксида азота для эрадикации возбудителей гнойной инфекции в послеоперационной ране [Текст] / Лабазанов А.А., Подпорин М.С., **Кузнецов К.В.** // Ж. **Российская стоматология.** – 2017. - Т.10. №1. – С.19-20.

9. Лабазанов, А.А. Корректирующее влияние фотодинамической терапии на оксидативные процессы при операционном стрессе [Текст] / Лабазанов А.А., **Кузнецов К.В.,** Подпорин М.С., Царёв В.Н. // Ж. **Форум стоматологии / DentalFORUM** – 2017. - Т.67. №4. – С.45-46.

Подписано в печать: 19.06.2019  
Тираж: 100 экз. Заказ № 179  
Отпечатано в DMA MEDIA  
119261, Москва, Ленинский проспект, дом 72/2