Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

НА ТЕМУ: МИКРОБИОТА ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Выполнил студент

Лащенов Павел Владимирович

522 группы

Научный руководитель

к.м.н., доцент Михайлова Екатерина Станиславовна

к.б.н., доцент Королева Ирина Владимировна

Санкт-Петербург

2018

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

Перечень условных обозначений…………………………………………..….4

Введение……………………………………………………………………..….5

Актуальность……………………………………………………………..….5Цель исследования…………………………………………………..….…...6

Задачи исследования………………………………………………………...7

Научная новизна работы………………………………………………..…...7

Практическая значимость работы………………………………….……….7

**Глава 1.** Литературный обзор………………………………………….……...8

* 1. Этиология и патогенез сахарного диабета 2 типа……………...……..8
  2. Этиология воспалительных заболеваний пародонта….......................10
  3. Патогенез воспалительных заболеваний пародонта……………........16

**1.4.** Влияние сахарного диабета 2 типа на развитие заболеваний пародонта………………………………………………………………...…18

**1.5.** Микробиология полости рта………..……...………….…...………..…..22

* + 1. Микробная флора полости рта в норме………………………....22
    2. Микробиота полости рта при хроническом генерализованном пародонтите у пациентов с сахарным диабетом 2 типа..............24

**1.6.** Вирулентные свойства пародонтопатогенов……………...……..…..25

**Глава 2.** Материалы и методы исследования………………………...…….36

**2.1.** Клиническая характеристика пациентов…………………….........…36

**2.2.** Оценка стоматологического статуса пациентов…….…………..…..37

**2.3.** Рентгенологический метод исследования…………………….……..42

**2.4.** Микробиологические методы исследования……………………..…42

**2.4.1.** Забор материала………………………...…………………...…42

**2.4.2.** Выделение тотальной ДНК из исходного биологического материала……………………………………………………………...43**2.4.3.** Конструирование олигонуклеотидных праймеров…..…........43

**2.4.4.** Полимеразная цепная реакция (ПЦР)…………………...……45

**2.4.5.** Электрофорез фрагментов ДНК……………………….…..…..45

**2.5.** Компьютерный анализ ………………………………………...……...46

**Глава3.**Результаты исследований …………………………......……..…......47

**3.1.** Результаты клинических исследований ……………..……...........….47

**3.1.1.** Анализ жалоб пациентов с сахарным диабетом 2 типа….…..47

**3.1.2.** Анализ анамнеза обследованных пациентов……………..…..54

**3.1.3.** Оценка стоматологического и пародонтологического статуса обследованных пациентов………………………………………...… 57

**3.1.2.** Оценка стоматологического и пародонтологического статуса пациентов с сахарным диабетом 2 типа……………………………..62

**3.2.** Результаты рентгенологического исследования ………....………....69

**3.3.** Результаты микробиологического исследования …………………...73

**Глава 4.** Заключение и выводы ……………………………………..............83

Заключение………………….……………………………...…..….….83

Выводы………………………………...….……………..…...……......87

Практические рекомендации…………………...….…………..……………..88

Список литературы…………………………………………..…………....…..89

Приложение…………………………………..……………....………....….....93

**ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ВЗП - воспалительные заболевания пародонта

ВОЗ - всемирная организация здравоохранения

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ЛПС - липополисахарид

ПЦР - полимеразная цепная реакция

СД– сахарный диабет

ХГП ЛСТ – хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести

ХГП ССТ – хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести

ХГП ТСТ – хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени тяжести

CPITN - Community Periodontal Index of Treatment Needs

OHI–S - Oral Hygiene Indices–Simplified

РМА - папиллярно–маргинально–альвеолярный индекс

**ВВЕДЕНИЕ**

**Актуальность**

Сахарный диабет (СД) является одним из самых тяжелых и распространенных системных заболеваний в современном мире [Еловикова Т.М., 1989; НемецкаяТ.И,1997; Дедов И.И., 1998; Звинигинцев М.А., 1998; C. Maltoui, 2007]. По данным ВОЗ (2005), в мире насчитывается около ста миллионов больных СД.

По медико-социальной значимости проблема СД занимает третье место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [Кулешов Е.В., Кулешов С.Е., 1996].

Кроме того, именно СД 2 типа является одной из основных проблем здравоохранения в большинстве развитых стран мира, влияющей на состояние зубочелюстной системы [Балаболкин М.И., 2000; Дедов И.И., 2000; Демидова И.Ю., 2000; Кудрякова С.В., 2000].

У больных СД 2 типа развиваются воспалительные заболевания пародонта (ВЗП), которые характеризуются агрессивным характером течения [Еловикова Т.М., 1989; Месер Ахмед, 1989]. Наиболее часто выявляются гингивит и хронический генерализованный пародонтит (ХГП) различной степени тяжести [Османова Т.Т., 2007; Nelson R.G., 2008 Мусаева Р.С., 2009].

Решающее значение в патогенезе заболеваний пародонта имеют воспалительно-деструктивные изменения тканей пародонта как следствие бактериальной инвазии [Бурдули В.Н., 2009; Loesche W.J., 1998; Jagannathachary S., 2010].

Степень этих изменений достаточно разнообразна, даже при одинаковом спектре бактериальных агентов, что говорит о наличии влияния общесоматических заболеваний на степень патологических изменений в пародонте [Плахтий Л.Я., 2001].

Таким образом, вероятность развития и степень тяжести пародонтита напрямую связана с СД. Механизм данной взаимосвязи остается не до конца изученным.

Существуют предположения, что ведущую роль в развитии ХГП у пациента с СД играют нарушения трофики и микроциркуляции. Согласно последним исследованиям, риск развития пародонтита у больных с СД в 2,8-3,4 раза выше [Preshaw P.M., 2012].

Микрофлора пародонтального кармана у пациентов с СД 2 типа вызывает более тяжелые воспалительно-деструктивные изменения в пародонте, чем у больных, не страдающих фоновой патологией [Воропаева Л.В., 2000].

У пациентов с нарушением углеводного обмена на фоне длительного течения СД происходит повышение образования пародонопатогенов, причем в геометрической прогрессии [Genco R.G., Shah H.N., 2005].

Таким образом, бактериальная инвазия играет очень важную роль в развитии ВЗП.

Оценка качественного состава микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с СД 2 типа является важной составляющей при выборе методов лечения, а также перспективным направлением исследований в научной и практической стоматологии.

**Цель исследования:**

Оценка качественного состава микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с СД 2 типа.

**Задачи исследования:**

1. Изучить стоматологический и пародонтологический статус у пациентов с ХГП и сопутствующим СД 2 типа.

2. Изучить качественный состав микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с ХГП и сопутствующим СД 2 типа.

3. Выявить возможную взаимосвязь воспалительных изменений в тканях пародонта и изменениями микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с ХГП и сопутствующим СД 2 типа.

**Научная новизна:**

Проведена оценка микробиоты пародонтальных карманов пациентов с ХГП различной степени тяжести без СД, пациентов с ХГП различной степени тяжести и СД. Проведен ПЦР – скрининг на пародонтопатогены и определены *P. gingivalis, T. forsythia, T. denticola и P. intermedia.*

**Практическая значимость:**

Проведенное исследование позволило выявить особенности стоматологического и пародонтологического статуса пациентов с СД 2 типа.

Выявлены различия в качественном составе микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с ХГП без СД и пациентов с ХГП и сопутствующим СД 2 типа.

**ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР**

* 1. **Этиология и патогенез сахарного диабета 2 типа**

«Сахарный диабет 2 типа - гетерогенная по этиологии и патогенезу группа заболеваний, характеризующихся мультифакториальной наследственной предрасположенностью, относительной инсулиновой недостаточностью и инсулинорезистентностью.

Дебатируется вопрос о том, какая из двух выделенных патогенетических основ СД 2 типа первична. У большей части больных СД 2 типа сочетается с ожирением и коррелирует с пожилым возрастом, что заставляет предположить особую роль длительного действия выявляющих его факторов или существенное значение возрастной экспрессии предрасполагающих генов» [Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 2007].

Наследственная предрасположенность при СД 2 типа играет основную роль. Однако данное заболевание не связано с наличием определенного типа HLA-генов, и нет данных о вовлечении аутоиммунных механизмов. Проявлению генетической предрасположенности к сахарному диабету способствует образ жизни - переедание, ожирение и малая физическая активность.

СД 2 типа характеризуют 2 метаболических дефекта:

- снижение секреции инсулина β-клеткой, количество которого оказывается неадекватным увеличению в крови концентрации глюкозы;

- неспособность тканей отвечать на воздействие инсулина (инсулинорезистентность).

Нарушение сопряжения между увеличением в крови концентрации глюкозы и секрецией инсулина приводит к развитию СД 2 типа. На ранних стадиях развития СД 2 типа содержание инсулина в крови не снижается. Но минимальные дефекты в функционировании β-клеток уже могут быть обнаружены.

Происходит нарушение нормального ритма секреции инсулина. У здоровых людей инсулин секретируется в две фазы, в то время как у больных СД первая, быстрая фаза секреции, которая запускается повышающимся уровнем глюкозы крови, нарушается.

Это нарушение секреции инсулина обусловливается уменьшением количества инсулиннезависимого мембранного транспортного белка GLUT-2, обеспечивающего проникновение глюкозы внутрь β-клеток. В результате чего происходит снижение секреции инсулина в ответ на повышение уровня глюкозы крови.

Таким образом, при СД 2 типа имеет место нарушение сопряжения между увеличением в крови концентрации глюкозы и секрецией инсулина β -клетками. В результате у больных СД 2 типа возникает относительный дефицит инсулина.

Снижение чувствительности тканей к инсулину встречается также при ожирении и беременности. Поскольку дефицит инсулина у пациентов с СД 2 типа выражен не настолько, чтобы объяснить нарушения метаболизма, вполне логично предположить нарушения ответа на воздействие инсулина со стороны тканей-мишеней.

При инсулинорезистентности уменьшается количество рецепторов к инсулину и нарушается пострецепторная передача сигнала внутрь клетки. Как было описано выше, связывание инсулина с рецептором приводит к перемещению изнутри клетки на мембрану глюкозотранспортирующих единиц (GLUT), в частности GLUT-4, которые обеспечивают поступление глюкозы внутрь клетки. Уменьшение синтеза и транспорта к мембране GLUT-4 в мышцах и жировой ткани приводит к инсулинорезистентности [Рубцовенко А.В., 2006].

**1.2. Этиология воспалительных заболеваний пародонта**

К ВЗП относят гингивит и пародонтит. Данные заболевания можно рассматривать как последовательные этапы единого воспалительно-дистрофического заболевания, характер развития которого во многом зависит от генетически определенных фенотипических признаков (наличие вирулентности и токсических свойств) микроорганизмов, от определенной предрасположенности к инфекции макроорганизма, генетически и фенотипически обусловленного несовершенства резистентности пародонта и от влияния неблагоприятных внешних факторов [Цепов Л.М., 2006].

Проведенные А.И. Грудяновым и Г.М. Барером (1994) исследования свидетельствуют о том, что только у 12 % населения пародонт является здоровым, у 53% пациентов отмечаются воспалительные явления начального характера, у 23% возникают начальные деструктивные изменения тканей пародонта, а у 12% выявляются поражения пародонта средней и тяжелой степени тяжести. Последние наиболее распространены у пациентов старше 35 лет и их удельный вес постоянно увеличивается.

По данным результатов эпидемиологических исследований отечественных и зарубежных авторов, самым распространенным заболеванием пародонта у молодых людей является гингивит, а после 30 лет – пародонтит [Alexander К. ,1970; Cassard G., 1971; Murray J, 1974; Kowalski В., 1974; Semczuk-Mazurkiewicz A., 1974; Jackson К., 1975; Beck J.D., 1996; Slade G.D., 1996; Gjermo P.E., 1998; Алимский А.В., 2000; Борисова Е.Н., 2001; Иванов В.Ф., 2001; Иванов В.С., 2002; Боровский Е.В., 2004].

Зубные бляшки являются первичным этиологическим фактором развития ВЗП, который играет основополагающую роль в возникновении и развитии болезней пародонта [Данилевский Н.Ф., 2000; Курякина Н. В., 2000; Дмитриева Л.А., 2001; Безрукова И.В., 2002; Грудянов А.И., 2002; Тумшевиц О.Н., 2013].

Взаимодействие микроорганизмов зубной бляшки и местного тканевого ответа на нее является одной из главенствующих причин развития ВЗП. Это связано с преобладанием влияния микробных скоплений над местными антимикробными защитными механизмами вследствие снижения реактивности организма.

На фоне комплекса местных и общих факторов происходит усиление патогенетического потенциала микроорганизмов.

К местным факторам относят:

- Состав и свойства слюны;

- Гипофункция тканей пародонта;

- Бактериальное влияние на ткани пародонта;

- Травматическая окклюзия;

- Отсутствие межзубных контактов;

- Кариес;

- Неправильно изготовленные пломба, вкладка, коронка;

- Нарушение формы зуба или положения в зубном ряду (скученные зубные ряды);

- Перегрузка тканей пародонта из-за изменения функций жевания и глотания вследствие потери зубов, хронических заболеваний слизистой оболочки полости рта, заболеваний височно-нижнечелюстного сустава;

- Травма кламмерами съемных протезов, консольными или недостаточно качественно изготовленными мостовидными протезами.

К системным факторам относят:

- Атеросклеротические изменения сосудов;

-Нарушение нейрогуморальной регуляции гомеостаза;

-Изменение иммунологической реактивности;

-Заболевания внутренних органов;

-Заболевания эндокринной системы;

-Физиологические состояния, которые сопровождаются гормональными изменениями (беременность, менопауза);

-Заболевания желудочно-кишечного тракта;

-Заболевание сердечно-сосудистой системы;

-Болезни почек;

- Хроническое психоэмоциональное напряжение;

- Интоксикации;

-Гипо- и авитаминозы;

- Ротовое дыхание;

- Генетическая предрасположенность [Цепов Л.М. и соавт., 2006].

Таким образом, все вышеназванные факторы негативно влияют на ткани пародонта. Они создают условия для патогенного влияния микробиоты на зубодесневое прикрепление, что в дальнейшем приводит к его воспалению и деструкции с образованием пародонтальных карманов [Орехова Л.Ю., 2004; Мюллер Х.П., 2004].

Несмотря на большое количество проведенных исследований, этиология и патогенез пародонтита еще не изучены до конца.

В XIX веке пародонтит относили к специфической инфекции. По данной теории считалось, что пародонтит вызывается специфическим микроорганизмом.

В конце XX века, в 1976 году Walter Loesche выдвинул гипотезу неспецифического микробного налета. По данным этой концепции состояние тканей пародонта зависит от уровня гигиены полости рта. Ее автор говорил об отрицательном влиянии зубного налета вне зависимости от состава бактерий. Автор указывал на зависимость развития воспалительного процесса в тканях пародонта от «количества вырабатываемых бактериями повреждающих веществ» и уровня защитных факторов. Но когда экспериментальным путем на подопытных собаках выяснилось, что не у всех исследуемых животных, несмотря на увеличение биомассы зубной бляшки, развивался пародонтит, возникли сомнения в правомерности теории неспецифического микробного налета.

Кроме того, активное образование зубных бляшек и наличие гингивита не обязательно приводит к развитию деструктивных процессов в тканях пародонта. У лиц с пародонтитом отмечается разная степень поражения тканей пародонта в области рядом расположенных зубов.

Благодаря развитию микробиологических методов исследования была установлена взаимосвязь между активностью воспалительного процесса в тканях пародонта и присутствием отдельных видов микроорганизмов. Данная теория получила название «специфической бляшечной».

Согласно теории специфического зубного налета, основополагающая роль в развитии заболеваний пародонта отводится специфической микрофлоре. По данным этой теории патогенность микрофлоры коррелирует с тяжестью процесса и его прогрессированием [Walter Loesche, 1975]. Walter Loesche утверждал, что только определенный по составу налет является патогенным. Патогенность налета связана либо с наличием, либо с увеличением в его составе определенных бактерий. Данное утверждение явилось основанием для того, чтобы доказать этиологическую роль *A. actinomycetemcomitans* в генезе очагового ювенильного пародонтита [Герберт Ф.В., 2007; Гуляева О.А., 2016; Haake S.K., 2010; Meyer D.H., 2010].

Установлено, что деструктивное заболевание пародонта связано с относительно небольшой группой бактерий. У лиц здоровых, пациентов с гингивитом и пародонтитом отличаются пропорции специфических бактерий в полости рта. При ВЗП отмечается рост грамотрицательных палочковидных бактерий и снижение грамположительных видов. В здоровых участках преобладают грамположительные факультативные анаэробы, в пораженных пародонтитом – грамотрицательные анаэробы.

Бактериальные виды, вызывающие пародонтит:

• Грамотрицательные анаэробы: *P. gingivalis, T. forsythia, F. nucleatum, P. intermedia, C. rectus, T. denticola* и другие спирохеты полости рта;

• Грамотрицательные факультативные анаэробы:

*A. actinomycetemcomitans, E. corrodens*;

• Грамположительные анаэробы: *E. nodatum, P. micros, S. intermedius*. [Ричард Дж. Ламонт, Мэрилин С. Лантц, 2010].

Все вышеперечисленные микроорганизмы, встречаются и у здоровых людей, но реже, или в небольшом количестве, поэтому очень долго оставалось непонятным с чем связан рост популяции данных микроорганизмов при ВЗП.

Как альтернатива «специфической» гипотезе была выдвинута экологическая гипотеза. Ричард Дж. Ламонт (2010) утверждает: «Согласно этой гипотезе, внешние факторы запускают изменение состава резидентной микрофлоры зубной бляшки, что приводит к преобладанию патогенных, а не комменсальных микробов. Так, нарушение тока и изменение рН десневой жидкости могут приводить к местному преобладанию патогенных видов».

Специфическая и экологическая гипотезы признают различия между патогенным потенциалом разных микробов зубной бляшки. Однако экологическая гипотеза придает особое значение смешанной микрофлоре, а также уделяет большое внимание экологическим сдвигам.

Экологическое исследование 40 видов бактерий, выделенных из 13000 образцов зубных бляшек, обнаружило 5 основных комплексов:

• «Красный комплекс» обладает наивысшим патогенным потенциалом. Он связан с образованием глубоких десневых карманов. В него входят: *P. gingivalis, T. forsythia, T. denticola;*

• «Зеленый комплекс» является причиной ВЗП, поражений слизистой оболочки рта и твердых тканей зубов. Представителями являются: *A. actinomycetemcomitans, E. сorrodens;*

• «Желтый комплекс» включает такие виды микроорганизмы как *S. sanguis, S. mitis, S. israilis;*

• «Пурпурный комплекс»: *V.parvula, A. odontolyticus*;

• «Оранжевый комплекс»: *P. nigrescen, P. micros, C. rectus, P. intermedia* [Ричард Дж. Ламонт, Мэрилин С. Лантц, 2010].

Основой вышеперечисленных бактериальных комплексов являются метаболические и сигнальные взаимодействия между бактериями, а также их общая активация под действием внешних факторов [Грудянов А.И., 2009; Ричард Дж.Ламонт,2010; Мэрилин С. Лантц, 2010].

В 1985 г. создана теория «оппортунистической инфекции». В соответствии с данной теорией, микроорганизмы, которые находятся в зубном налете развиваются под влиянием экзогенных или эндогенных факторов и вытесняют другие бактерии. Оппортунистическая инфекция зависит от наличия патогенных бактерий и от среды, которая способствует их размножению, например, локальные изменения рН, анаэробная ниша, изменения резистентности организма [Григорьян А.С., 2004; Лабинская А.С., 2008; Ричард Дж. Ламонт, 2010; Мэрилин С. Лантц, 2010].

**1.3. Патогенез воспалительных заболеваний пародонта**

Патогенез ВЗП обусловлен несколькими составляющими: неспецифической защитой, специфическими иммунологическими процессами и медиаторами воспаления.

Г.М. Барер (2013) утверждает: «… Участие микроорганизмов в развитии патологического процесса в пародонте можно представить следующим образом. Инфекционные агенты выделяют бактериальные токсины (липополисахариды, липотеновую кислоту, мурамил-дипептид и др.) и хемотаксины. Привлеченные в очаг воспаления полиморфноядерные лейкоциты, тромбоциты, моноциты и образующиеся из них макрофаги выделяют простагландины, которые могут прямо активировать остеокласты, а также действуя на лимфоциты, стимулируют выделение ими остеокласт-активирующего фактора. Локальные и системные факторы в совокупности приводят к развитию пародонтита с выраженными воспалительно-деструктивными изменениями и резорбцией костной ткани».

Неспецифическая защитная реакция влияет не на все антигенные субстанции. Например, мукопептиды клеточной оболочки грамположительных бактерий и липосахариды грамотрицательных бактерий зубной бляшки обладают наиболее выраженными антигенными свойствами. В связи с этим происходит дополнительная активация специфической системы иммунной защиты, а именно гуморальной и клеточной системы.

В-лимфоциты ответственны за гуморальный иммунный ответ. Некоторые из них могут трансформироваться в плазматические клетки, которые в дальнейшем начинают вырабатывать специфические иммуноглобулины (Ig).

Г.М. Барер (2013) пишет: «… При развитии воспаления в тканях пародонта увеличивается количество IgA, IgG, IgM за счет сывороточных Ig в связи с повышением проницаемости стенок и повреждением микрососудов. Напряженность гуморального иммунитета больше выражена в начале заболевания и по мере прогрессирования патологического процесса количество сывороточных IgM, IgG снижается, количество IgA может оставаться высоким, а sIgA- снижается».

Присоединение бактерий к эпителию замедляют IgA и предотвращают проникновение микроорганизмов в ткани, с помощью IgG происходит активация системы комплемента. Продукты активации системы комплемента увеличивают проницаемость сосудов, вызывают хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов и способствуют фагоцитозу бактерий, а IgM способны нейтрализовать инородные частицы и вызвать лизис клеток.

Т- лимфоциты ответственны за клеточный ответ. После активации антигеном они превращаются в Т- эффекторы или в долгоживущие Т- клетки памяти.

Также важным компонентом являются медиаторы воспаления: серотонин, гистамин, лейкотриены, брадикинин, интерлейкины, простагландин.

При пародонтите повышается активность простагландина Е2, который оказывает стимулирующее воздействие на остеокласты, повышает проницаемость сосудов и обладает вазодилятирующим эффектом. Интерлейкин-1 также активирует остеокласты, а интерлейкин-2 необходим для пролиферации Т- клеток и других процессов, регулирующих иммунный ответ [Иванов В.С., 1998].

Таким образом, экзотоксины и эндотоксины вызывают альтерацию тканей пародонта, что в свою очередь способствует развитию воспалительной реакции.

**1.4. Влияние сахарного диабета 2 типа на развитие заболеваний пародонта**

Сахарный диабет оказывает значительное влияние на все основные элементы этиопатогенеза заболеваний пародонта, включая бактериальную инвазию, защитные свойства организма, репаративные процессы в тканях, кровообращение и метаболизм в них [Maltoui C., 2006; Bourgeois D., 2006; Bouchard P., 2006].

Канканяном А.П. и Леонтьевым В.К. (1996) было проведено стандартизированное обследование больных с СД 2 типа. Распространенность и интенсивность поражений пародонта в этой выборке пациентовсравнивались с аналогичными показателями репрезентативной выборки из популяции практически здоровых лиц. Было установлено, что у больных СД 2 типа распространенность заболеваний пародонта достоверно выше, чем в контрольной выборке, причем основной нозологической формой у больных СД является пародонтит.

Большую значимость представляет вопрос о механизмах влияния СД на развитие заболеваний пародонта. Данная проблема является до конца не изученной и обсуждается многими авторами [Munehiro Т., 2006; Miki О., 2006; Hideo Y., 2006; Salvi G.E., 2005; Kandulaki M., 2005; Persson G.R, 2005; Jansson H., 2006; Lindholm E., 2006; Lindh C., 2006].

Существует большое многообразие путей влияния СД 2 типа на этиопатогенез поражений пародонта.

Джураева Ш.Ф., Ашуров Г.Г. (2008) суммировали основные патомеханизмы ассоциированных с диабетом поражений пародонта. К возможным механизмам увеличения риска заболеваний пародонта при диабете вышеназванные авторы относят:

«- Васкулярные расстройства. Увеличение толщины базальной мембраны микрососудов пародонта, их облитерация ведет к ишемии пародонтальных тканей с нарушением репаративных и защитных механизмов.

- Микробиологические расстройства. Диабет приводит к увеличению распространенности и объема зубных бляшек и камней. Патогенная микрофлора бляшек при диабете та же, что и без него, однако бактериальная колонизация и инвазия бактерий усиливаться.

- Нарушение метаболизма коллагена. Синтез коллагена при сахарном диабете подавлен, а его распад под действием коллагеназ усилен. Подавлены рост и пролиферация фибробластов, образование ими матрикса соединительной и костной ткани. Это приводит к нарушению нормальных репаративных процессов и способствует дегенеративным изменениям».

Не менее актуальным является вопрос о том, каким образом эти факторы трансформируются в локальную реакцию тканей пародонта при сахарном диабете.

Одними из самых серьёзных нарушений в тканях парoдонта при СД являются сосудистые нарушения. Они развиваются за счет спастических изменений сосудов и капилляров, а также нарушения функций самой крови. Это приводит к замедлению поступления питательных веществ и снижению резистентности тканей к микроорганизмам.

Изменения сосудов пародонта при СД 2 типа настолько специфичны, что их обозначают термином «диабeтическая парoдонтопатия» [Аженова К. И., 2013; Барер Г.М., 2006].

Диабетический пародонтит имеет свою собственную морфогистологическую специфику, в значительной мере отличающуюся от других воспалений пародонта.

Диабетические гистоморфологические изменения в капиллярах пародонта хорошо описаны и схожи с диабетическими изменениями в сетчатке глаза и клубочках почек [Straka M., 2002].

У пациентов с СД 2 типа немаловажную роль играет иммунитет. Изменения углеводного обмена вызывают нарушения со стороны иммунной системы, возникшие вследствие ослабления и повреждения функций клеток макрофагов и нейтрофилов.

Происходит увеличение иммуноглобулинов А и G наряду с уменьшением иммуноглобулинов М и со снижением Т и В лимфоцитов [Балаболкин М. И., 1999; Макишева Р. Т., 2013].

На фоне снижения устойчивости тканей пародонте к действию местных факторов возрастает роль микроорганизмов, а высокая концентрация глюкозы в десневoй жидкости при СД cпособствует размнoжению микрoорганизмов, в результате чего происходит быстрое образование зубного камня [Григорян К. Р., 2006; Барер Г. М., 2006; Григорян О. Р., 2006].

Основные механизмы повреждения тканей пародонта при диабете:

- снижение функций нейтрофилов (за счет нарушения фагоцитоза, хемотаксиса и механизма ликвидации микроорганизмов);

- нарушение клеточной пролиферации, синтеза коллагена и способности к его регенерации;

- гликация пародонтальных тканей (с образованием веществ AGEs (advanced glycation end products) конечных продуктов гликирования), которые стимулируют выработку моноцитов, которые вырабатывают большие количества TNFα);

- повышение коллагенолитической активности;

- возникновение диабетической микроангиопатии;

- повышение остеолитической активности и повышение количества пародонтопатогенных бактерий [Ryan M.E., 1999; Straka M., 2002].

AGEs являются основными первичными факторами, ответственными за развитие диабетических осложнений. Формирование AGEs приводит к производству свободных радикалов [Brian L, 2016].

Измененные волокна коллагена накапливаются в тканях, что приводит к утолщению базальной мембраны. Это ослабляет диффузию кислорода, выведение продуктов метаболизма, миграцию лейкоцитов и диффузию иммунных факторов и может, таким образом, способствовать развитию пародонтита.

Увеличивается местная выработка цитокинов (IL-1β, TNIL-6, TNFα) моноцитами (макрофагами), которые увеличивают воспалительный ответ, приводя к повреждению соединительной ткани, резорбции кости и медленному заживлению ран.

ВЗП при СД по клиническим данным протекают менее благоприятно, чем у лиц, не страдающих диабетом: более высокий уровень естественных киллеров и интерлейкинов IL-1β и TNFα в крови, снижение функциональной активности лимфоцитов, тенденция к повышению уровня функциональной супрессорной активности лимфоцитов.

Сдвиги в иммунной системе у больных с заболеваниями пародонта и СД выражены в большей степени и менее благоприятны.

ВЗП характеризуются изменениями в иммунном статусе больных: снижение содержания в крови Т- и В-лимфоцитов, а также Т-лимфоцитов-хелперов. При этом резко возрастает число естественных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов [Орехова Л.Ю., 1999; Оганян Э.С., 1999; Левин М.Я, 1999].

Цитокины (такие как TNFα) изменяют жировой обмен, способствуя появлению резистентности к воздействию инсулина, что происходит одновременно с активацией интерлейкинов IL-1β и IL-6, являющихся его прямыми антагонистами [Мащенко И.С., 1997].

Таким образом, развитие воспалительной реакции затрудняет компенсацию процессов, направленных на нормализацию уровня сахара в крови у пациентов с диабетом. Возникает порочный круг, «звенья» которого усложняют контроль диабета и стимулируют дальнейшее развитие пародонтита. Следовательно, профилактика и лечение ВЗП крайне важны для эффективного контроля общего состояния пациента, страдающего СД [Райан М.А., 2006; Вильямс Р., 2006; Гросси С., 2006].

**1.5. Микробиология полости рта**

Своеобразие системы полости рта состоит в том, что она постоянно находится в контакте с внешней средой и функционирующие в полости рта механизмы находятся под постоянным двойным влиянием микроорганизмов и влиянием внешней среды [Олейник И.И. и др.,1983].

Наиболее информативным показателем состояния полости рта является микрофлора полости рта, а также взаимодействие факторов местной и общей неспецифической и специфической резистентности.

**1.5.1. Микробная флора полости рта в норме**

По данным Е.В. Боровского и В.К. Леонтьева (2001), количество видов бактерий в полости рта колеблется от 100 до 160.

Объяснить данное количество микроорганизмов можно не только тем, что бактерии попадают в полость рта с воздухом, водой, пищей - транзитные микроорганизмы, время пребывания которых в полости рта ограничено, но и наличием резидентной бактериальной флоры полости рта, которая образует стабильную экосистему.

В нормальных условиях меняется только количество представителей нескольких или большинства видов, однако видовой состав остается у конкретного человека практически постоянным на протяжении длительного периода времени.

Половина резидентной бактериальной флоры полости рта представлена факультативными и облигатными анаэробами, стрептококками, которые включают в свой состав *S. mutans, S. mitis, S. sanguis* и пептострептококки.

Различные виды стрептококков локализуются на определенной «нише», например, наибольшее количество энтерококков было обнаружено на спинке языка и в гингивальной борозде. *S. mutans* обычно локализуется в зубной бляшке на коронковой части зуба [Боровский Е.В., 2001; Зеленова Е.Г.,2004; Елисеева А.Ф. 2014].

Таким образом, для каждого участка полости рта характерен свой видовой состав микроорганизмов.

Еще одна часть резидентной микрофлоры состоит из вейллонелл и дифтероидов. Стафилококки, лактобациллы, жгутиковые микроорганизмы, спирохеты, лептоспиры, фузобактерии, бактероиды, нейссерии, спиралевидные формы, дрожжи, другие грибы, простейшие находятся в полости рта в гораздо меньшем количестве. Несмотря на то, что эти микроорганизмы постоянно присутствуют в полости рта, они никогда не бывают так широко представлены, как стрептококки, вейллонеллы и дифтероиды.

Таким образом, необходимо различать главных и второстепенных представителей резидентной микрофлоры [Боровский Е.В.; Леонтьев В.К., 2001; Пашкова Г.С. 2007; Максимовский Ю.М. 2009].

Между этими постоянными представителями существуют антагонизм или синергизм. Считается, что стрептококки *S. salivarius, S. sanguis, S. mitis, S. salivarius, S. mutans, S. milleri, Propionibacterium spp, Lactobacillus spp., Enterococcus spp.; Enterobacterium spp., Veillonella spp.* и дифтероиды являются стабилизирующей частью микрофлоры полости рта, которая при изменении условий может проявлять свои патогенные свойства, а стрептококки (*S. mutans*), лактобациллы, бактероиды, актиномицеты — агрессивной [Царев В.И., 2008].

**1.5.2. Микробиота полости рта при хроническом генерализованном пародонтите у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.**

У пациентов с хроническим пародонтитом в полости рта развиваются дисмикробиозы и существенные изменения в составе нормальной микрофлоры.

При пародонтите роль резидентной микрофлоры в поддержании постоянства биоценоза снижается, увеличивается частота встречаемости транзиторной микрофлоры и значимость условно-патогенных представителей.

Развитию пародонтита предшествуют дисбиотические процессы в полости рта, обусловленные перестройкой аэробной аутохтонной микрофлоры, и проявляющиеся увеличением числа условно-патогенных микроорганизмов, имеющих высокие показатели факторов вирулентности.

По результатам проведенных исследований С. Гарти Четри с соавт. (2015), микрофлора пародонтальных карманов пациентов с давностью течения сахарного диабета более 10 лет была более разнообразной, по сравнению с группой пародонтологических больных с впервые выявленным СД.

У пациентов с давностью течения СД более 10 лет микробный пейзаж представлен преимущественно грибами рода *Candida*, коринебактериями, представителями анаэробной микрофлоры: *Treponema ssp. и Actinomices ssp*., а также бактериями – трансбионтами *Sarcina tetr.*

У пациентов с впервые выявленным пародонтитом помимо вышеперечисленных микроорганизмов микроорганизмов обнаруживается также гемолитический стрептококк, *S. salivarius*, *E. сoli*.

Отмечено, что в группе пациентов с длительностью СД более 10 лет в биотопе пародонтального кармана значительно чаще встречались микроорганизмы, стимулирующие факторы патогенности и персистенции симбионтов (*S. haemolyticus, S. aureus, Candida ssp.*), а штаммы, обладающие антагонистическим действием к патогенной и условно-патогенной микрофлоре (*S. salivarius, Corynebacterium spp*.), напротив – реже.

Микрофлора пародонтальных карманов пациентов с впервые выявленным СД является более стабильной и значительно отличается от нормальной. Снижается защитная и регуляторная функции аутохтонной микрофлоры, являющейся биологическим барьером, препятствующим размножению патогенных и условно патогенных микроорганизмов, поступающих из внешней среды, а также адекватно стимулирующей местный иммунитет и поддерживающей цитокиновый баланс.

**1.6. Вирулентные свойства пародонтопатогенов**

В нашем исследовании мы исследовали в пародонтальных карманах пациентов с СД 2 типа 4 микроорганизма: *P. gingivalis, T. forsythia, T. denticola и P. intermedia*. Вышеперечисленные бактерии посредством своих факторов вирулентности участвуют в развитии пародонтита. Согласно последним исследованиям эти пародонтопатогенные микроорганизмы наиболее часто встречаются у пациентов с ХГП [Царев В.И., 2008]

1*. P. gingivalis* – это неподвижная грамотрицательная анаэробная палочка. Из предполагаемых возбудителей она наиболее тесно связана с ХГП. Обнаружение *P. gingivalis* в полости рта может указывать на повышенный риск развития пародонтита, а при правильно подобранной терапии происходит снижение числа этих микроорганизмов в тканях.

- Молекулы и структуры:

a) Протеазы

Основная функция протеаз – обеспечение растущих клеток пептидами. Но так как они разрушают фибриноген и белки внеклеточного матрикса макроорганизма, то могут ослаблять его защитные механизмы. Поэтому этим молекулам в настоящее время приписывается роль основных факторов вирулентности при развитии пародонтита.

На данный момент известны генетические последовательности, обеспечивающие синтез данных ферментов.

Лучше всего охарактеризованы аргинин- и лизин специфические цистеиновые протеиназы - гингипаин R и гингипаин К, синтез которых кодируют три гена: rgpA, rgpB, kgp. Данные ферменты обладают адгезивной и гемагглютинирующей активностью.

У *P. gingivalis* существует другая группа цистеиновых протеиназ – стрептопаин-подобная протеаза, пародонтаин, являющиеся продуктами гена prtT, которые расщепляют и инактивируют ингибитор а1-протеиназы. Эти протеиназы обладают гемагглютинирующей способностью.

Другой ген (tpr) кодирует синтез Pz-пептидазы, располагающийся на поверхности бактериальной клетки. Данный фермент не действует на нативный коллаген, расщепляет желатин и Pz-пептид, что приводит к разрушению коллагена зубодесневого прикрепления в пародонте.

Другие протеиназы включают аминопептидазы, эндотелин-превращающий фермент, подобный эндопептидазе, и пролилдипептидилпептидазу IV.

Протеиназы участвуют в нарушении целостности тканей, поскольку разрушают белки внеклеточного матрикса - фибронектина и ламитина, гидролизизируют коллагены, разрушают фибриноген и активируют калликреин-кининовую систему; повреждают защитные механизмы макроорганизма, разрушая иммуноглобулины, уничтожают цитокины и поверхностные рецепторы лейкоцитов, инактивируют систему комплемента. При этом микроорганизм получает гемины и ионы железа от макроорганизма.

b) Гемагглютинины

Прикрепление бактерий к рецепторам клеток макроогранизма и последующая их колонизацию глютинирующая способность микроорганизма связана с фимбриями, липополисахаридом (ЛПС) и липидом на поверхности клетки, соответствующими доменами протеаз и такими белками, как HagA, HagB и HagC. Последние представляют собой адгезины, и с их помощью бактерии крепятся к клеткам макроорганизма, например, эпителиальным клеткам или эритроцитам.

c) Липополисахариды (ЛПС)

В ЛПС *P. gingivalis*, в отличие от ЛПС энтеробактерий, не содержится гептоза, либо содержится в очень небольших количествах; кроме того, жирные кислоты бактерии несколько длиннее и более разветвленные. У *P. gingivalis* слабая эндотоксичность в отличие от ЛПС других бактерий, что является следствием несходства их химической структуры.

d) Фимбрии

На поверхности бактерий имеются перитрихиальные фимбрии. Выделяют 2 типа фимбрий. Длинные фимбрии проявляют гомологию с субъединицами фимбрий бактерий других видов. Короткие фимбрии встречаются реже. В опытах in vitro показана потенциальная роль фимбрий в прикреплении, колонизации и разрушении тканей пародонта. Фимбрии играют важную роль в развитии инфекционного процесса.

e) Пузырьки наружной мембраны

Пузырьки возникают путем выпячивания наружной мембраны и вследствие этого в них содержатся ее структуры, а также компоненты периплазмы. Пузырьки участвуют в связывании микроорганизма с эритроцитами, другими бактериями и поверхностью гидроксиапатита. Кроме того, они обладают способностью агрегировать тромбоциты.

Предполагают, что адгезивные микропузырьки могут быть средством доставки факторов вирулентности, поскольку благодаря их малому размеру они могут проникать в недоступные для клеток места.

f) Полисахаридная капсула

У *P. gingivalis* выделяют шесть различных серотипов капсул. Поскольку инкапсулированные штаммы плохо фагоцитируются, капсулу считают важным фактором вирулентности. Полисахаридная капсула может маскировать ЛПС, что приводит к изменению его активность.

- Механизмы вирулентности:

*P. gingivalis* подобно другим микробам полости рта должна прикрепиться к субстрату, что происходит благодаря фимбриям. Они связываются с различными субстратами: эпителиальные клетки, компоненты матрикса, компоненты слюны, гидроксиапатит, что способствует дальнейшей колонизации. После этого микроорганизм проходит эпителиальный барьер, повреждает сигнальную систему клетки, инактивирует транскрипцию и секрецию нейтрофилами IL-8, разрушает компоненты плотного межклеточного контакта, что приводит к проникновению в более глубокие слои. Протеолитические ферменты разрушают белки макроорганизма и нарушают его функции. Это приводит к развитию воспалительной реакции, но может происходить супрессия реакции из-за компонентов клетки бактерии.

*P. gingivalis* стимулирует разрушение костной ткани, подавляет ее восстановление из-за нарушения взаимодействия между остеобластами и остеокластами, ЛПС приводит к выбросу из фибробластов, макрофагов и моноцитов молекул костной резорбции, таких, как IL-1, PgЕ2, TNF-α. Эти медиаторы способствуют синтезу ферментов-протеаз макроорганизма для разрушения костной ткани. [Ричард Дж. Ламонт, 2010; Мэрилин С. Лантц, 2010]

2. *T. denticola* – грамотрицательная облигатно-анаэробная бактерия из семейства спирохет.

- Молекулы:

a) Главный белок наружной мембран

Этот адгезин массой 53 кДа (Msp) обладает порообразующей способностью и опосредует связывание с различными поверхностными структурами и матриксными молекулами (фибронектином, ламинином, фибриногеном). Он также цитотоксичен в отношении эпителиальных клеток и эритроцитов (скорее всего, за счет порообразующей активности).

b) Протеиназы

С белком Msp тесно связан дентилизин, подобный химотрипсину протеиназный комплекс наружной мембраны с молекулярной массой 95 кДа(CTLP), а также комплекс PrtP, состоящий из белков с молекулярной массой 72, 40 и 30 кДа. Этот специфичный к пропилфенилаланину протеиназный комплекс обладает широким спектром активности. Продукт гена prcA – PrcA массой 70 кДа расщепляется белком PrtP на белки массой 40 и 30 кДа (PrcA1 и PrcA2 соответственно). Возможно, расщепление необходимо для формирования комплекса, либо его стабилизации. Он участвует в прикреплении микробных клеток, инвазии в ткани организма с их деструкцией. У *T. denticola* обнаружен ряд других протеолитических ферментов, которые способны разрушать структурные компоненты пародонта и биологически-активные молекулы организма-хозяина.

c) Гемин- и лактоферринсвязывающие белки

У *T. denticola* выявлено не менее 2 механизмов связывания гемина, в одном из которых участвует фосфолипаза С. Геминсвязывающие белки считают компонентом особого пути захвата железа. У *T. denticola* идентифицированы также белки, связывающие лактоферрин. Используя рецепторы своей наружной мембраны (массой 17 и 43 кДа), бактерии могут утилизировать лактоферрин слюны.

- Механизмы вирулентности:

a) Подвижность и хемотаксис

Подвижность считается основным фактором вирулентности спирохет, так как неподвижные мутанты неспособны инфицировать ткани организма-хозяина. Подобно другим спирохетам, у *T. denticola* подвижность зависит от вязкости среды. В десневой борозде она высока, поэтому подвижность может обеспечивать проникновение бактерии в ткани. В пенетрации и инфильтрации тканей, вероятно, принимает участие и хемотаксис.

b) Гемагглютинация и гемолиз

*T. denticola* могут агглютинировать и лизировать эритроциты. Гемагглютинирующая активность зависит от фазы роста и наличия гемолизина (белка массой 45 кДа). Он гомологичен аминотрансферазам и связывается с D-глюкозаминподобными компонентами. Гемолиз может вызывать и дентилизин.

c) Адгезия

Фибробласты. *T. denticola* прикрепляются к десневым фибробластам человека в аэробных и анаэробных условиях, скорее всего, за счет взаимодействия лектина бактерий с галактозо- маннозосодержащим рецептором фибробласта.

Внеклеточный матрикс. Большинство штаммов *T. denticola* связываются с внеклеточными белками, например с фибронектином, ламинином, коллагенами типов I и IV в базальной мембране, а также фибриногеном и желатином (наиболее прочно – с ламинином). В специфической связи с каждым белком участвует его сульфгидрильные н карбоксильные группы. Ламинин, фибронектин и фибриноген связываются с главным белком (53 кДа) *T. denticola*.

Очищенный мембранный комплекс CTLP (дентилизин) может расщеплять IgA, IgG, фибриноген, альфа-1-антитрипсин, желатин, ланимин, сывороточный альбумин и трансферрин. Он также связывается с гиалоуронаном — полисахаридом многослойного плоского эпителия полости рта.

Эпителиальные клетки. *T. denticola* может связываться с эпителиальными клетками, вызывая цитопатическое действие. Предполагают, что в адгезии участвует дентилизин, который при этом взаимодействует с главным белком наружной мембраны (Msp) этих бактерий. Считается, что Msp встраивается в плазматическую мембрану клетки организма-хозяина и опосредует перенос в нее поверхностных компонентов бактерий. Обладая цитотоксичностью, дентилизин вызывает также вспенивание мембраны эпителиальной клетки, подавляет адгезию и подвижность мигрирующих клеток.

Эндотелиальные клетки. *Т. denticola* может прикрепляться к эндотелию, связываясь с клетками на всем их протяжении и часто используя для этого микроворсинки клеток организма-хозяина.

Коагрегация. *T. denticola* образуют агрегаты с *Р. gingivalis* и *Fusobacterium spp.*, что может иметь значение для формирования зубной бляшки, а также для питания бактерий.

d) Инвазия

Проникновение в ткани. На модели абсцесса на фоне нарушенной и нормальной функции нейтрофилов *T. denticola* вызывают стойкие глубокие очаги поражения. Другие трепонемы полости рта давали сходные повреждения, но они не были связаны с активностью протеаз, подобных химотрипсину.

Проникновение в клетки. Хотя для *T. denticola* нехарактерно проникновение в клетки, эти бактерии могут внедряться в прочные монослои эпителиальной и эндотелиальной ткани.

e) Протеолитическая активность

Дентилизин может нарушать межклеточные связи, ослабляя барьерную функцию эпителия. В опытах на мышах установлено, что дефицитные по протеазной активности мутантные бактерии, в отличие от исходного штамма, не разрушали соединения между эпителиальными клетками.

f) Иммуносупрессия

Установлено, что лизаты *T. denticola* подавляют пролиферативный ответ человеческих лимфоцитов на антигены и мутагены. Это действие бактерий зависит от моноцитов и не приводит к нарушению жизнеспособности лимфоцитов. Кроме того, липопротеиновая фракция бактерий может оказывать влияние на зависимые и независимые от кислорода защитные функции нейтрофилов.

3. *T. forsythia* – грамотрицательная анаэробная бактерия из семейства *Bacteroides*.

- Молекулы:

a) Гидролазы

*T. forsythia* синтезирует трипсиноподобные протеазы – аргининспецифичную цистиновую протеазу и сиалидазу. Цистиновая протеаза обладает также гемолитической активностью; она обнаруживается в мембранных фракциях бактерий, что может указывать на ее участие в приобретении железа из эритроцитов.

- Механизмы вирулентности:

a) Коагрегация

*T. forsythia* коагрегирует с *P. gingivalis* при участии различного рода белково-белковых взаимодействий, причем данный процесс может подавляться сывороткой крови. Возможна коагрегация и со *S. сristatus*.

b) Адгезия

В связывании *T. forsythia* с фибронектином и фибриногеном участвует BspA – поверхностный антиген с богатыми лейцином повторами. *T. forsythia* может прикрепляться также к эритроцитам, фибробластам и лейкоцитам. [Чухловин А.Б.,2007; Соловьева А.М., 2007; Ричард Дж. Ламонт, 2010; Мэрилин С. Лантц, 2010]

4. *P. intermedia* - грамотрицательная облигатно – анаэробная бактерия.

- Молекулы и структуры:

a) Фимбрии

У данного микроорганизма выделяют четыре вида фимбрий (в основе классификации лежит их диаметр). Тип фимбрий и характер их расположения зависит от штамма: некоторые не образуют фимбрии, другие – только один тип, третьи – несколько типов.

b) Гидролазы

Для *P. intermedia* характерны гидролитические, в том числе протеолитические (например, образуются протеазы *IgG, IgA*, нуклеолитические, липолитические и сахаролитические свойства. Выраженность этих свойств зависит от штамма.

c) Гемолизин и гемагглютинин

Связанные с поверхностью *P. intermedia* пузырькам наружной мембраны присуща гемолитическая активность. По-видимому, она обусловлена многокомпонентным гемолизином, существующим в двух функциональных формах. Бактерия может приводить к термолабильной агглютинации эритроцитов, обусловленной главными фимбриями, а к термостабильной агглютинации за счет ЛПС – подобных структур.

- Механизмы вирулентности:

a) Коагрегация

Коагрегация *P. intermedia* представлена высокоспецифичным процессом. Некоторые штаммы коагрегируют только с отдельными видами *Actinomyces*. В коагрегации участвуют поверхностный белок или гликопротеин *P. intermedia.*

b) Адгезия

*P. intermedia* может прилипать к буккальным эпителиальным клеткам, а также связываться белками макроорганизма: с коллагеном типа I, фибриногеном, ламинином органической матрицы организма-хозяина, разрушает лактоферрин клеток, что способствует колонизации ткани.

c) Инвазия в эпителиальные клетки

Проникновение *P. intermedia* в эпителиальные клетки связано с присутствием фимбрий типа С.

d) Индукция выработки воспалительных цитокинов

ЛПС и поверхностные компоненты *P. intermedia* способствуют индукции экспрессирования провоспалительных цитокинов. IL-1 активирует резорбцию костной ткани, IL-8 является хемокином для нейтрофильных лейкоцитов, IL-6 приводит к активации пролиферации Т- и В- лимфоцитов [Чухловин А.Б., 2007; Соловьева А.М., 2007; Ричард Дж.Ламонт, 2010; Мэрилин С.Лантц, 2010].

Таким образом, патогенная микробиота пародонтальных карманов играет важную роль в развитии и течении ХГП. Поэтому терапия ХГП, прежде всего, должна быть своевременна и направлена на снижение или полное исключение воздействия пародонтопатогенных микроорганизмов.

Исследование микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с ХГП различной степени тяжести c СД и без СД необходимо для своевременного назначения этиотропного и патогенетического лечения, что позволит приостановить течение ХГП.

**ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**2.1****. Клиническая характеристика пациентов**

В соответствии с поставленными задачами было проведено обследование 74 пациентов (42 женщин и 32 мужчин) в возрасте от 30 до 69 лет (средний возраст составил 50,7±8,7 лет). В соответствии с поставленными задачами было сформировано 2 группы обследования:

1 группа (основная группа) – 41 пациент с ХГП различной степени тяжести и сопутствующим СД 2 типа;

- 1-ая подгруппа основной группы – 13 пациентов с ХГП легкой степени тяжести и сопутствующим СД 2 типа;

- 2-ая подгруппа основной группы – 13 пациентов с ХГП средней степени тяжести и сопутствующим СД 2 типа;

- 3-ья подгруппа основной группы – 15 пациентов с ХГП тяжелой степени и сопутствующим СД 2 типа.

2 группа (контрольная группа) – 33 пациента с ХГП различной степени тяжести:

- 1-ая подгруппа контрольной группы – 15 пациентов с ХГП легкой степени тяжести;

- 2-ая подгруппа контрольной группы – 9 пациентов с ХГП средней степени тяжести;

-3-ья подгруппа контрольной группы – 9 пациентов с ХГП тяжелой степени.

Критерии включения пациентов в исследование:

* Основная группа - достоверный диагноз ХГП, достоверный диагноз СД 2 типа, информированное согласие пациента;
* Контрольная группа: отсутствие СД 2 типа, достоверный диагноз ХГП, информированное согласие пациента.

Критерии исключения пациентов из исследования: курильщики; наличие ортодонтических аппаратов; тяжелая сопутствующая патология внутренних органов с функциональной недостаточностью, опухоли любой локализации; ВИЧ-инфекция, активный туберкулез; отказ больного от обследования.

Всем пациентам было проведено обследование, предусматривающее оценку стоматологического статуса, с занесением полученных данных в карту обследования стоматологического пациента.

**2.2. Оценка стоматологического статуса пациентов**

Клиническое обследование пациентов было проведено по общепринятой методике, которая включала сбор анамнеза, внешний осмотр и осмотр полости рта. При этом определяли интенсивность кариеса постоянных зубов, уровень гигиены полости рта, состояние тканей пародонта. Использован комплекс основных и дополнительных методов исследования.

Программа обследования пациента:

• сбор анамнеза жизни и заболевания;

• клинический осмотр (зубная формула, состояние прикуса, уздечек верхней и нижней губ, тяжей слизистой оболочки рта, цвет слизистой оболочки десны);

• интенсивность кариеса оценивали по методике, рекомендованной ВОЗ, путём подсчёта индекса КПУ зубов (Klein, 1938). Данный индекс основан на подсчете количества кариозных (К), пломбированных (П) и удаленных (У) зубов;

• наличие мягкого зубного налета, наддесневых и поддесневых отложений;

• характер экссудата из пародонтального кармана;

• оценка ортопантомограмм и компьютерной томографии;

• оценка подвижности зубов по степени их смещения по шкале Miller в модификации Fleszar (1980):

0 - зуб устойчив, подвижность находится в пределах физиологической;

1-я степень - зуб смещается относительно оси, но смещение не превышает 1мм;

2-я степень - зуб смещается на 1-2мм в щечно-язычном направлении, при этом функция его не нарушена;

3-я степень - подвижность резко выражена, зуб подвижен не только в щечно-язычном направлении, но и по вертикали, функция его нарушена;

• определение клинической потери прикрепления (КПП) - расстояния между границей эмаль/цемент и клинически зондируемым дном пародонтального кармана.

Необходимо отметить, что фактическое дно кармана или борозды невозможно определить зондом, так как при воспалении десны зонд всегда проходит сквозь соединительный эпителий; при давлении 2 МПа зонд уже достигает соединительной ткани.

При легкой степени тяжести ХГП потеря клинического прикрепления составляет 1-2 мм, при средней – 3-4 мм, при тяжелой – 5 мм и более;

• определение стоматологических индексов:

1. Индекс гигиены Силнес-Лоу (Silness, Loe, 1964)

Используется для определения толщины зубного налета. Обследуются 11, 16, 24, 31, 36, 44, могут быть осмотрены все зубы или по желанию исследователя. Исследуются 4 поверхности зуба: вестибулярная, оральная, дистальная, медиальная; при этом выявляют налет в придесневой области. Наличие налета определяется визуально или с помощью зонда без окрашивания. После высушивания эмали кончиком зонда проводят по ее поверхности у десневой борозды.

Критерии оценки:

0 баллов — налета в придесневой области нет (он не прилипает к кончику зонда);

1 балл — пленка налета в придесневой области определяется только зондом, к его кончику прилипает мягкое вещество, визуально налет не определяется;

2 балла — налет виден невооруженным глазом в десневом желобке и в придесневой области коронки зуба. Слой — от тонкого до умеренного;

3 балла — налет в избытке на большей части поверхности зуба, интенсивное отложение зубного налета в области десневой борозды и межзубных промежутков.

Индекс определяется как частное от деления суммы показателей на общее число обследованных зубов.

2. Упрощенный индекс гигиены полости рта (OHI−S, Green, Vermillion, 1964)

Критерии оценки упрощенного индекса гигиены полости рта (OHI−S, Green, Vermillion, 1964) представлены в таблице 2.2.1.

С помощью зонда исследуются индексные зубы: щечная поверхность 16, 26, язычная поверхность 36 и 46 и губная поверхность 11, 31. Движение зондом производят от режущего края к десне.

**Таблица 2.2.1.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Баллы | зубной налет (зн) | зубной камень (зк) |
| 0 | отсутствует | отсутствует |
| 1 | мягкий зубной налет покрывает до 1/3 коронки и/или любое количество плотного пигментного налета | наддесневой зубной камень до 1/3 коронки |
| 2 | налет покрывает от 1/3 до 2/3 поверхности | наддесневой зубной камень от 1/3 до 2/3 коронки и/или поддесневой зубной камень в виде отдельных глыбок |
| 3 | мягкий налет покрывает более 2/3 поверхности | наддесневой зубной камень более 2/3 коронки и/или поддесневой зубной камень циркулярно охватывает шейку зуба |

OHI-S = индекс зубного налета (∑(ЗН/n)) + индекс зубного камня(∑(ЗК/n)), где n – количество зубов.

Итерпретация результатов:

0–1,2 балла — низкий, хорошая гигиена;

1,3–3,0 балла — средний, удовлетворительная;

3,1–6,0 балла — высокий, неудовлетворительная;

6,0 баллов и более — очень высокий, плохая.

3. PMA -папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (Parma С., 1960)

Оценка индекса РМА проводится по следующим критериям:

0 — отсутствие воспаления;

1 — воспаление только десневого сосочка (Р);

2 — воспаление маргинальной десны (М);

3 — воспаление альвеолярной десны (А).

Индекс РМА рассчитывают по формуле:

РМА = (Сумма баллов) / (3 х число зубов) \* 100%

Интерпретация результатов:

30% и менее - легкая степень тяжести гингивита;

31—60 % - средняя степень тяжести гингивита;

61% и выше - тяжелая степень тяжести гингивита.

4. Кровоточивость при зондировании (ВОР) (Аinаmo, Вау, 1975)

При определении индекса обследуют десну в области поверхностей зубов на предмет наличия (+) или отсутствия (-) кровоточивости. Степень выраженности гингивита и кровоточивости выражается в %.

ВОР = (количество кровоточащих точек)/ (количество точек замера) \*100%

5. Индекс нуждаемости в пародонтологическом лечении CPITN (ВОЗ, 1978, Аinаmoetal., 1982)

Это комплексный пародонтальный индекс нуждаемости в лечении. Применяется для оценки состояния пародонта взрослого населения. С целью определения показателя используется пародонтальный зонд специальной конструкции, имеющий на конце шарик диаметром 0,5 мм и черную полоску на расстоянии 3,5мм от кончика зонда. У пациентов исследуют пародонт в области шести групп зубов (17/16, 11, 26/27, 37/36, 31, 46/47) на нижней и верхней челюстях. Если в названном секстанте нет ни одного индексного зуба, то в этом секстанте осматриваются все сохранившиеся зубы.

Регистрация результатов исследования проводится согласно следующим кодам:

0 – здоровая десна, нет признаков патологии;

1 – после зондирования наблюдается кровоточивость десны;

2 – зондом определяется поддесневой зубной камень (черная полоска зонда не погружается в десневой карман);

3 – определяется карман 4-5мм (черная полоска зонда частично погружается в зубодесневой карман);

4 – определяется карман более 6мм (черная полоска зонда полностью погружена в десневой карман).

**2.3. Рентгенологический метод исследования**

Производили оценку ортопантомограмм пациентов с ХГП различной степени тяжести без СД и пациентов с ХГП различной степени тяжести с сопутствующим СД 2 типа: отмечали наличие или отсутствие костных карманов; величину деструкции костной ткани альвеолярного отростка (деструкция на 1/3, от 1/3-1/2 и более 1/2 длины корня); оценивали компактную пластинку костной ткани (четкая, разрушенная).

**2.4. Микробиологические методы исследования**

**2.4.1. Забор материала**

Забор материала из пародонтальных карманов у пациентов основной и контрольной групп для микробиологических исследований проводили с помощью стерильных бумажных эндодонтических абсорберов Absorbent PaperPoints, фирмы Euronda (размер №25), которые вводили в пародонтальные карманы пациента на 10 секунд. После забора материала забора материала эндодонтические абсорберы помещались в стерильные пробирки типа Eppendorf и хранились при -200С.

До взятия материала пациенты не применяли никаких полосканий с лекарственными средствами и в день забора материала из пародонтальных карманов утром не проводили чистку зубов.

**2.4.2. Выделение тотальной ДНК из исходного биологического материала**

Для выделения ДНК из биологического материала использовали тест-систему для ПЦР «ДНК-экспресс» (Литех, Россия) в соответствии с инструкцией.

В пробирки типа Eppendorf с исследуемым материалом на эндодонтических абсорберах добавляли по 120 мкл реагента, после чего содержимое пробирок тщательно перемешивали на центрифуге-встряхивателе (Vortex, Biosan) в течение 10 секунд. Абсорберы извлекали из пробирок, затем пробирки помещали в твердотельный термостат и инкубировали при t = +98°С в течение 20 минут. После инкубации пробирки центрифугировали при скорости 13000 об/мин в течение 15 секунд. Полученный супернатант использовали в дальнейшем при постановке полимеразной цепной реакции.

**2.4.3. Конструирование олигонуклеотидных праймеров**

Конструирование, анализ олигонуклеотидных праймеров и определение температуры плавления праймеров осуществляли с помощью компьютерных программ Primer 3 и OLIGO 4.0 (табл. 2.4.3.1).

**Таблица 2.4.3.1**

Олигонуклеотидные праймеры

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Название | 5’→3’ | Т0отж. | | Размер фрагмента, п.н. |
|  | *P. gingivalis* | | | | |
| 1 | Gin1 | GTATATGCTCGACGAGGTGGAA | 57,0 | | 334 |
| 2 | Gin2 | ATTGTCCAGGGTAACTTCTTCG |  | |  |
|  | *T. forsythia* | | | | |
| 3 | For1 | CGAGGGTTCAATACGCTGTT | 54,0 | | 572 |
| 4 | For2 | ATAAAAATCGCATCGCAAGG |  | |  |
|  | *P. intermedia* | | | | |
| 5 | Int1 | AATACAGCCTTCGAGGGTTT | 55,0 | | 335 |
| 6 | Int2 | TTCGGTCAAGACAGTAGGGA |  | |  |
|  | *T. denticola* | | | | |
| 7 | Den1 | TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT | | 60,0 | 311 |
| 8 | Den2 | TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA | |  |  |

**2.4.4. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)**

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – это метод ферментативного получения амплификаций (большого количества копий) исследуемых фрагментов ДНК путем повторных циклов репликации и денатурации (разделения цепи ДНК на отдельные нити). При этом происходит копирование только исследуемого участка ДНК, поскольку только этот участок соответствует заданным условиям и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце.

К 0,25 мкл геномной ДНК добавляли 10 мкмолей каждого из специфических праймеров, фланкирующих исследуемую последовательность, буфер с магнием для полимеразы, по 0,2 мМ каждого из 4 дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, объем доводили водой до 25 мкл. Добавляли 0,4 мкл термостабильной ДНК полимеразы. На поверхность жидкости наслаивали 40 мкл минерального масла. Пробирки помещали в амплификатор (Терцик, Россия). Смесь инкубировали при t = 94оС в течение 3 минут. Прибор программировали по активному регулированию температуры в растворе: цикл денатурации t = 94oС на 15 секунд, цикл отжига праймеров на 15 секунд, цикл синтеза ДНК t = 72oС на 20 секунд. Последовательность таких циклов повторялась 35 раз. После чего смесь инкубировали при t = 72oС в течение 5 минут. Олигонуклеотидные праймеры, использованные в работе, приведены в таблице 2.4.3.1.

**2.4.5. Электрофорез фрагментов ДНК**

Электрофорез ДНК проводили в 1,0% агарозном геле в горизонтальном аппарате «WideMini-SubCell GT Cell- 170-4468» (BioRad, США) с использованием ТАЕ буфера (ThermoScientific, Германия). Время электрофореза – 40 мин, напряжение устанавливали 120 В при площади геля 150 см2. Для визуализации ДНК в ультрафиолетовых лучах в гель добавляли раствор бромистого этидия (0,5 мкг/мл). Визуализацию результатов электрофореза проводили в ультрафиолетовом свете с использованием системы видеозахвата «VersaDoc MP 4000» (BioRad, США) и системы видеозахвата, использующей цифровой фотоаппарат (Olimpus, Япония) и компьютерную программу «QuantityOne» (США).

Для расчета молекулярных масс исследуемых фрагментов ДНК использовали ДНК-маркер «100 bpPlus DNA ladder».

**2.5. Компьютерный анализ**

Статистическая обработка включала вычисление параметров средних величин, значение среднего квадратического отклонения, значение средней ошибки среднего арифметического числа. Был произведен расчет достоверности разности средних величин, а также корреляционный анализ в программе Microsoft Excel. Для визуализации результатов исследования были построены диаграммы.

**ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**3.1. Результаты клинических исследований**

**3.1.1. Анализ жалоб пациентов с сахарным диабетом 2 типа**

По итогам анализа результатов клинического и рентгенологического исследования пациентам основной и контрольной групп были поставлены соответствующие диагнозы.

ХГП тяжелой степени тяжести выявлен у 15 человек основной группы (37,5%), ХГП средней степени тяжести– у 13 пациентов основной группы (32%), ХГП легкой степени тяжести– у 13 пациентов основной группы (32,5%).

ХГП тяжелой степени тяжести был диагностирован у 9 пациентов контрольной группы (27,3%), ХГП средней степени тяжести– у 9 пациентов контрольной группы (27,3%), легкой степени тяжести– у 15 пациентов контрольной группы (45,5%) (рис.3.1.1.1.).

**Рис. 3.1.1.1.** Распределение пациентов в соответствии с диагнозом

Анализ результатов, полученных в ходе клинического исследования, показал, что все обследованные пациенты основной и контрольной группы предъявляли жалобы на кровоточивость при чистке зубов (100%), а также на отек и воспаление десен (100%).

Пациенты основной и контрольной групп предъявляли жалобы на неприятный запах из полости рта (90% и 60% соответственно). Некоторые пациенты жаловались на попадание пищи между зубами, зуд и жжение в деснах, подвижность зубов. Данные результаты представлены в таблице 3.1.1.1., на рисунке 3.1.1.2.

**Таблица 3.1.1.1.**

Жалобы пациентов основной и контрольной группы с ХГП различной степени тяжести

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа  Жалоба | Основная группа | | Контрольная группа | | Значение p |
| Число пациентов | % | Число пациентов | % |
| Кровоточивость при чистке зубов | 41 | 100 | 33 | 100 | 1,000 |
| Зуд и жжение в деснах | 23 | 56 | 7 | 21 | 0,003 |
| Неприятный запах из полости рта | 37 | 90 | 20 | 61 | 0,003 |

Продолжение таблицы 3.1.1.1.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Подвижность зубов | 22 | 54 | 7 | 21 | 0,005 |
| Смещение зубов | 24 | 59 | 12 | 36 | 0,058 |
| Попадание пищи между зубами | 14 | 34 | 8 | 24 | 0,355 |
| Отек и воспаление десен | 41 | 100 | 33 | 100 | 1,000 |

При анализе жалоб пациентов основной и контрольной групп получены статистически значимые различия в количестве предъявляемых жалоб пациентами на зуд и жжение в деснах, неприятный запах из полости рта и подвижность зубов (p<0,05).

**Рис. 3.1.1.2.**Процент выявленных жалоб у пациентов основной и контрольной групп

Анализ жалоб обследованных пациентов основной группы по подгруппам представлен в таблице 3.1.1.2.

**Таблица 3.1.1.2.**

Жалобы обследованных пациентов по подгруппам с ХГП различной степени тяжести и СД 2 типа.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа  Жалоба | Основная группа, 1 подгруппа (ХГП легкой степени) (n=13) | | Основная группа, 2 подгруппа (ХГП средней степени) (n=13) | | Основная группа,  3 подгруппа (ХГП тяжелой степени)  (n=15) | | Значение p |
| Число пациентов | % | Число пациентов | % | Число пациентов | % |  |
| Кровоточивость при чистке зубов | 13 | 100 | 13 | 100 | 15 | 100 | 1,000 |
| Зуд и жжение в деснах | 7 | 54 | 7 | 58 | 9 | 60 | 0,683 |
| Неприятный запах из полости рта | 10 | 76 | 13 | 100 | 14 | 93 | 0,001 |
| Подвижность зубов | 0 | 0 | 6 | 50 | 15 | 100 | 0,001 |
| Смещение зубов | 2 | 15 | 8 | 67 | 14 | 93 | 0,001 |

Продолжение таблицы 3.1.1.2.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Попадание пищи между зубами | 3 | 23 | 5 | 42 | 6 | 40 | 0,009 |
| Отек и воспаление десен | 13 | 100 | 12 | 100 | 15 | 100 | 1,000 |

При анализе жалоб пациентов с ХГП различной степени тяжести и СД 2 типа выявлено, что процент предъявляемых жалоб на зуд и жжение в деснах, неприятный запах из полости рта, подвижность и смещение зубов, попадание пищи между зубами увеличивался по мере прогрессирования пародонтита и развития тяжелых форм заболевания (рис. 3.1.1.2.).

Получены статистически значимые различия в количестве предъявляемых жалоб на неприятный запах из полости рта, подвижность и смещение зубов, попадание пищи между зубами у пациентов основной группы в подгруппах (p<0,001).

**Рис. 3.1.1.3.** Процент выявленных жалоб у пациентов основной группы с ХГП различной степени тяжести и СД 2 типа

Анализ жалоб пациентов контрольной группы с ХГП различной степени тяжести представлен в таблице 3.1.1.3.

**Таблица 3.1.1.3.**

Жалобы пациентов контрольной группы с ХГП различной степени тяжести

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа  Жалоба | Контрольная группа, 1 подгруппа (ХГП легкой степени) (n=15) | | Контрольная группа, 2 подгруппа (ХГП средней степени) (n=9) | | Контрольная группа,  3 подгруппа (ХГП тяжелой степени)  (n=9) | | Значение p |
| Число пациентов | % | Число пациентов | % | Число пациентов | % |
| Кровоточивость при чистке зубов | 15 | 100 | 9 | 100 | 9 | 100 | 1,000 |
| Зуд и жжение в деснах | 2 | 13 | 3 | 33 | 2 | 22 | 0,004 |
| Неприятный запах из полости рта | 10 | 66 | 5 | 56 | 5 | 56 | 0,241 |
| Подвижность зубов | 0 | 0 | 1 | 11 | 6 | 66 | Начало формы  0,001  Конец формы |
| Смещение зубов | 2 | 13 | 4 | 44 | 6 | 67 | 0,001 |
| Попадание пищи между зубами | 5 | 33 | 3 | 33 | 4 | 44 | 0,177 |
| Отек и воспаление десен | 15 | 100 | 9 | 100 | 9 | 100 | 1,000 |

При анализе жалоб пациентов контрольной группы с ХГП различной степени тяжести выявлено, что количество предъявляемых жалоб на зуд и жжение в деснах, подвижность и смещение зубов, попадание пищи между зубами увеличивалось по мере прогрессирования и развития тяжелых форм ХГП.

Получены статистически значимые различия в количестве предъявляемых жалоб у пациентов контрольной группы на зуд и жжение в деснах, подвижность и смещение зубов (p <0,05) (рис.3.1.1.4.).

**Рис. 3.1.1.4.** Процент выявленных жалоб у пациентов контрольной группы с ХГП различной степени тяжести

**3.1.2. Анализ анамнеза обследованных пациентов**

При сборе анамнеза было установлено, что 30 пациентов основной группы и 20 контрольной группы связывают развитие ХГП с наследственностью. Не знают о причинах развития ХГП 11 пациентов основной группы и 13 пациентов контрольной группы. Наличие вредных привычек все обследованные пациенты отрицали (100%).

При анализе сопутствующей патологии у пациентов основной и контрольной групп были выявлены такие заболевания как гипертоническая болезнь сердца, ишемическая болезнь сердца, хронический гастрит, язва желудка и язва двенадцатиперстной кишки, хронический холецистит, аллергические реакции (таблица 3.1.2.1.).

**Таблица 3.1.2.1.**

Сопутствующая патологии у пациентов основной и контрольной групп

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа  Сопутствующие заболевания  МКБ-10 | Основная группа  n=41 | | Контрольная группа  n=33 | | Значение p |
| Число пациентов | % | Число пациентов | % |
| Гипертоническая болезнь сердца | 40 | 97,5 | 2 | 6 | 0,001 |
| Ишемическая болезнь сердца | 12 | 29 | 0 | 0 | 0,001 |
| Хронический гастрит | 14 | 34 | 1 | 3 | 0,001 |
| Язва желудка | 1 | 2 | 0 | 0 | 0,156 |
| Язва двенадцатиперстной кишки | 2 | 4 | 0 | 0 | 0,044 |
| Хронический холецистит | 5 | 12 | 0 | 0 | 0,001 |
| Аллергические реакции | 7 | 17 | 7 | 21 | 0,471 |

Таким образом, в основной группе процент пациентов с сопутствующими патологиями выше. У пациентов основной группы значительной выше процент заболеваний - гипертоническая болезнь сердца, ишебическая болезнь сердца, хронический гастирит, язва двенадцатиперстной кишки и холецистит по сравнению с контрольной группой. Различия между группами статистически значимы (р<0,01).

При оценке полученных данных по гигиеническим навыкам пациентов (таблица 3.1.2.2), установлено, что большинство пациентов основной группы (85%) чистит зубы 2 раза в день зубной щеткой и пастой, 5 пациентов чистят зубы 1 раз в день зубной щеткой и пастой, а 2 пациента не проводят домашнюю гигиену полости рта. Выявлено, что только 28% пациентов основной группы используют дополнительные средства гигиены полости рта

В контрольной группе пациентов оценка гигиенических навыков показала, что 93% пациентов чистят зубы 2 раза в день ручной зубной щеткой и пастой, 3 пациента чистят зубы 1 раз в день ручной зубной щеткой и пастой, а 2 пациента не чистят зубы в домашних условиях. Также мы выяснили, что только 30% из контрольной группы пациентов используют дополнительные средства гигиены полости рта.

**Таблица 3.1.2.2**

Навыки индивидуальной гигиены полости рта обследованных пациентов

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Регулярность чистки зубов | Число пациентов основной группы (n=41) | % | Число пациентов контрольной группы (n=33) | % |
| 2 раза в день утром и вечером после еды | 33 | 82,5 | 28 | 84,8 |
| 1 раз в день | 5 | 12,5 | 3 | 9,1 |
| 1 раз в несколько дней | 2 | 5 | 2 | 6,1 |

Из выше представленной таблицы, можно предположить, что у большинства обследованных пациентов существует представление о необходимости чистке зубов 2 раза в день утром и вечером после, но отсутствуют знания о правильной технике проведения данной процедуры.

**3.1.3. Оценка стоматологического и пародонтологического статуса обследованных пациентов**

При осмотре полости рта кариес зубов и его осложнения были выявлены у всех пациентов основной и контрольной групп. Показатель КПУ составил 22,8±4,2 и 16,8±4,4 соответственно, что говорит об очень высоком уровне интенсивности кариеса в обеих группах.

У пациентов с СД 2 типа индекс КПУ значительно выше, чем у пациентов основной группы. Были получены статистически значимые различия р=0,000005.

Также у пациентов основной группы значения индексов КПУ в каждой подгруппе значительно выше, чем у пациентов контрольной группы, что представлено в таблице 3.1.3.1.

**Таблица 3.1.3.1.**

Значение индекса КПУ по подгруппам в основной и контрольной группах

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Группы  Степень  тяжести  ХГП | Значение индекса КПУ в основной группе | Значение индекса КПУ в контрольной группе | Значение p |
| ЛСТ ХГП | 22,38±3,31 | 17,8±3,19 | 0,0013 |

Продолжение таблицы 3.1.3.1.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ССТ ХГП | 22,54±3,84 | 12,56±3,21 | 0,000005 |
| ТСТ ХГП | 23,33±5,45 | 18,22±4,84 | 0,080992 |

У всех пациентов основной и контрольной групп выявлены клинические признаки воспаления тканей пародонта.

При изучении степени подвижности зубов у пациентов из контрольной группы определена подвижность I и II степени (39% и 23% соответственно), у 38% пациентов подвижность зубов не была выявлена. В то же время у пациентов основной группы отмечалась подвижность зубов I степени в 42% случаев, а II степени в 58 % случаев.

Достоверность различий между пациентами основной и контрольной групп по степени подвижности зубов статистически значима p=0,010. Таким образом, определяется тесная связь между наличием СД 2 типа и значением степени подвижности зубов (таблица 3.1.3.2).

**Таблица 3.1.3.2**

Степень подвижности зубов у пациентов основной и контрольной групп по подгруппам

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Основная группа | | | | Контрольная группа | | | |
|  | I степень | | II степень | | I степень | | II степень | |
|  | Число пациентов | % | Число пациентов | % | Число пациентов | % | Число пациентов | % |
| ХГП ЛСТ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ХГП ССТ | 8 | 62 | 5 | 38 | 3 | 33 | 0 | 0 |
| ХГП ТСТ | 3 | 20 | 12 | 80 | 0 | 0 | 9 | 100 |
|  | p<0,001 | | | | p<0,001 | | | |

При исследовании степени подвижности зубов по подгруппам, в основной и контрольной группе пациентов при ХГП ССТ преобладает I степень подвижности зубов (62% и 33%), а при ХГП ТСТ II степень подвижности зубов (80, 100%).

Выявлена статистически значимая связь между степенью тяжести пародонтита и подвижностью зубов отдельно в основной и контрольной группах.

При исследовании степени поражения фуркации зубов у пациентов основной и контрольной групп с ХГП ЛСТ поражения фуркации не были выявлены, при ХГП ССТ отмечалась 1 степень поражения фуркации, при ХГП ТСТ были выявлены 1 и 2 степень поражения фуркации.

Однако у пациентов основной группы с ХГП ТСТ процент пациентов с наличием 2 степени поражения фуркации равен 40%, а доля пациентов с 1 степенью поражения фуркации - 27%. В контрольной группе в отличие от основной группы преобладают пациенты с 1 степенью поражения фуркации - 56%, со 2 степенью выявлено 33% пациентов, что представлено на рис 3.1.1.5.

При исследовании степени поражения фуркации по подгруппам выявлены статистически значимые различия между основной и контрольной группы при ХГП ТСТ (p=0,006). В остальных подгруппах статистически значимых различий не выявлено.

**Рис. 3.1.3.1.** Распределение степени поражения фуркации зубов у пациентов основной и контрольной групп

Таким образом, у пациентов основной группы по мере прогрессирования ХГП увеличивается процент фуркационных дефектов 2 степени по сравнению с пациентами контрольной группы.

Следует отметить, что более глубокая рецессия десны наблюдалась у пациентов основной группы, где ее среднее значение составило 3,7±0,8 мм. Тогда как среднее значение рецессии десны в контрольной группе составило 3,3±0,6 мм **(p=0,029698).** Это говорит о том, что у лиц с СД 2 типа глубина рецессии десны больше по сравнению с пациентами без СД 2 типа.

При обследовании пациентов оценивали показатель клинической потери пародонтального прикрепления (табл. 3.1.3.3).

**Таблица 3.1.3.3.**

Показатель клинической потери пародонтального прикрепления по подгруппам у пациентов с ХГП основной и контрольной групп

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Основная группа | УКП, мм | Контрольная группа | УКП, мм | Значение р |
| ХГП ЛСТ | 1,8±0,5 | ХГП ЛСТ | 1,4±0,4 | **0,022174** |
| ХГП ССТ | 3,8±0,4 | ХГП ССТ | 3,2±0,5 | **0,0004** |
| ХГП ТСТ | 6,3±0,8 мм | ХГП ТСТ | 5,3±0,8 | **0,006104** |

Это говорит о том, что у лиц с СД 2 типа показатель клинической потери пародонтального прикрепления больше по сравнению с пациентами без СД 2 типа.

**Рис. 3.1.3.1.** Показатель клинической потери пародонтального прикрепления в основной и контрольной группах

В результате корреляционного анализа была выявлена тесная взаимосвязь между степенью тяжести патологии пародонта в основной группе и уровнем гликолизированного гемоглобина, а также между степенью тяжести патологии пародонта у пациентов с СД 2 типа и уровнем глюкозы.

Для основной группы были получены были получены коэффициенты корреляции = 0,74 и 0,71 соответственно, что подтверждает наличие прямой сильной связи этих параметров с достоверностью р=0,05 (рис. 3.1.3.2. и 3.1.1.3.).

**Рис. 3.1.3.2.** Взаимосвязь степени тяжести пародонтита и уровня гликолизированного гемоглобина у пациентов основной группы

**Рис. 3.1.3.3.** Взаимосвязь степени тяжести пародонтита и уровня глюкозы у пациентов основной группы

Согласно данным, представленным в таблице 3.1.3.4, достоверно можно говорить о том, что значения пародонтологических индексов в основной группе значительной превышают значения индексов в контрольной группе пациентов. Доказаны статистически значимые различия индексов РМА, CPITN, BOP у пациентов с СД 2 типа и без СД 2 типа. Статистически значимых различий между индексами гигиены у пациентов основной и контрольной групп не выявлено.

**Таблица 3.1.3.4.**

Значения индексов гигиены и состояния тканей пародонта у пациентов основной и контрольной групп

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Индексы гигиены и пародонтологические индексы | Основная группа | Контрольная группа | Значение р |
| OHI-S | 5,05±0,68 | 4,54±1,26 | **0,0583** |
| Silness-Loe | 9,47±1,80 | 8,34±2,86 | **0,058** |
| РМА | 77,85±14,16 | 51,04±16,93 | **0,00001** |
| CPITN | 3,21±0,45 | 2,57±0,66 | **0,000006** |
| BOP | 87,48±9,9 | 76,43±17,59 | **0,000776** |

Также был проведен корреляционный анализ, в результате которого была выявлена зависимость между тяжестью ХГП и значениями гигиенических и пародонтологических индексов у пациентов основной и контрольной групп.

В результате анализа в основной и контрольной группах были получены коэффициенты корреляции между тяжестью ХГП и индексами: Silness Loe - 0,51 и 0,21; OHI−S - 0,6 и 0,4; РМА - 0,7 и 0,8; CPITN - 0,6 и 0,5; ВОР=0,3 и 0,4 соответственно, что подтверждает наличие прямой связи этих параметров с достоверностью р=0,05 (Рис. 3.1.3.4., 3.1.3.5.).

**Рис. 3.1.3.4.** Взаимосвязь индекса OHI−S и степени тяжести пародонтита у пациентов основной группы

**Рис. 3.1.3.5.** Взаимосвязь индекса PMA и степени тяжести пародонтита у пациентов основной группы

Таким образом, выявляется тесная взаимосвязь между уровнем гигиены полости рта и состоянием тканей пародонта обследованных пациентов основной и контрольной групп.

**Таблица 3.1.3.5.**

Индекс гигиены Силнес-Лоу (Silness, Loe, 1964) у пациентов основной и контрольной групп

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Основная группа | | Контрольная группа | | Значение р |
| ХГП ЛСТ | 8,4±1,91 | ХГП ЛСТ | 7,36±3,06 | 0,74 |
| ХГП ССТ | 9,04±1,23 | ХГП ССТ | 7,91±2,77 | 0,287 |
| ХГП ТСТ | 10,76±1,35 | ХГП ТСТ | 10,41±1,37 | 0,807 |

Согласно данным, представленным в таблице 3.1.3.5., можно говорить о том, что статистически значимых различий индекса гигиены Silness, Loe между подгруппами основной и контрольной групп нет.

**Таблица 3.1.3.6.**

Упрощенный индекс гигиены полости рта (OHI−S, Green, Vermillion, 1964) у пациентов основной и контрольной групп

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Основная группа | | Контрольная группа | | Значение р |
| ХГП ЛСТ | 4,73±0,75 | ХГП ЛСТ | 4,34±0,41 | 0,409 |
| ХГП ССТ | 4,79±0,49 | ХГП ССТ | 4,46±1,00 | 0,392 |
| ХГП ТСТ | 5,54±0,46 | ХГП ТСТ | 4,96±1,03 | 0,581 |

Согласно данным, представленным в таблице 3.1.3.6., можно говорить о том, что статистически значимых различий индекса гигиены OHI−S между подгруппами основной и контрольной групп нет.

**Таблица 3.1.3.7.**

Индекс нуждаемости в пародонтологическом лечении CPITN (ВОЗ, 1978) у пациентов основной и контрольной групп

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Основная группа | | Контрольная группа | | Значение р |
| ХГП ЛСТ | 2,93±0,14 | ХГП ЛСТ | 2,08±0,39 | 0,000001 |
| ХГП ССТ | 2,9±0,28 | ХГП ССТ | 2,7±0,38 | 0,2050 |
| ХГП ТСТ | 3,7±0,28 | ХГП ТСТ | 3,26±0,57 | 0,0552 |

Из данных таблицы 3.1.3.7. можно утверждать, что статистически значимых различий индекса CPITN между подгруппами основной и контрольной групп нет, за исключением пациентов с ХГП ЛСТ.

**Таблица 3.1.3.8.**

Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА) у пациентов основной и контрольной групп

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Основная группа | | Контрольная группа | | Значение р |
| ХГП ЛСТ | 66,36±12,97 | ХГП ЛСТ | 41,22±13,11 | 0,000098 |
| ХГП ССТ | 78,61±11,38 | ХГП ССТ | 57,59±18,47 | 0,009702 |
| ХГП ТСТ | 87,16±10,07 | ХГП ТСТ | 60,88±12,93 | 0,000065 |

Согласно данным таблицы 3.1.3.8., можно утверждать, что значения индекса PMA в каждой подгруппе у пациентов основной группы значительно превышают значения индекса PMA по сравнению с контрольной группой.

**Таблица 3.1.3.9.**

Индекс ВОР (Аinаmo, Вау, 1975) у пациентов основной и контрольной групп

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Основная группа | | Контрольная группа | | Значение р |
| ХГП ЛСТ | 80,94±12,06 | ХГП ЛСТ | 65,5±12,96 | 0,0042 |
| ХГП ССТ | 92,51±5,03 | ХГП ССТ | 91,63±19,97 | 0,9038 |
| ХГП ТСТ | 88,79±8,57 | ХГП ТСТ | 79,43±7,33 | 0,0126 |

Согласно данным таблицы, можно утверждать, что значения индекса BOP в каждой подгруппе у пациентов основной группы по сравнению с контрольной группой достоверно выше, за исключением пациентов с ХГП ССТ.

Таким образом, можно сделать вывод, что различия значений индексов гигиены в подгруппах у пациентов основной и контрольной групп статистически не значимы. А пародонтологические индексы у пациентов с ХГП и СД 2 типа в подгруппах значительно превышают значения пародонтологических индексов пациентов без СД 2 типа (p<0,05).

Следовательно, при одинаковом уровне гигиены полости рта (неудовлетворительная гигиена полости рта), у пациентов с ХГП и сопутствующим СД 2 типа выявлена более выраженная воспалительная реакция тканей пародонта по сравнению с группой пациентов с ХГП без СД 2 типа, что подтверждается данными клинического обследования и индексной оценки состояния тканей пародонта.

**3.2. Результаты рентгенологического исследования**

При оценке ортопантомограмм у пациентов с ХГП было выявлено разрушение компактной пластинки альвеолярного гребня на всем протяжении зубного ряда. Также отмечалась различная степень деструкции кости, что соответствовало тяжести ХГП обследованного пациента.

Резорбция костной ткани вызывала образование внутрикостных пародонтальных карманов, которые обнаружены у всех пациентов с ХГП. Среднее количество костных карманов было выражено в равной степени у всех пациентов основной и контрольной групп, что представлено в таблице 3.2.1.

**Таблица 3.2.1**

Распределение пациентов по среднему количеству внутрикостных карманов на 1 пациента (М±m)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Среднее количество костных карманов на 1 пациента | Контрольная группа | Основная группа | Среднее количество костных карманов на 1 пациента | Значение p |
| 11,5±5,3 | подгруппа 1 | подгруппа 1 | 11,9±5,2 | **0,822465** |
| 12,0±3,7 | подгруппа 2 | подгруппа 2 | 12,7±4,5 | **0,443319** |

Продолжение таблицы 3.2.1.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 13,5±4,8 | подгруппа 3 | подгруп  па 3 | 13,7±3,3 | **0,799140** |

Следовательно, у пациентов основной и контрольной групп по мере прогрессирования ХГП наблюдается незначительное увеличение количества костных карманов. Различия между количеством обнаруженных костных карманов у пациентов основной и контрольной групп статистически не значимы.

**3.3. Результаты микробиологического исследования**

Содержимое пародонтальных карманов от пациентов основной и контрольной групп пациентов исследовали методом ПЦР–скрининга на наличие четырех пародонтопатогенов, ассоциированных с агрессивным развитием пародонтита (табл. 3.3.1., 3.3.2. и 3.3.3.).

**Таблица 3.3.1.**

Выявленные пародонтопатогены у пациентов основной группы методом ПЦР-диагностики

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № пациента | Степень тяжести | ***P. gingivalis*** | ***T. denticola*** | ***T. forsythia*** | ***P. intermedia*** |
| 1 | Легкая | - | - | - | + |
| 2 | Легкая | + | + | + | - |
| 3 | Легкая | - | - | - | - |
| 4 | Легкая | + | + | - | - |
| 5 | Легкая | + | - | + | - |

Продолжение таблицы 3.3.1.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 6 | Легкая | - | + | - | - |
| 7 | Легкая | - | + | + | - |
| 8 | Легкая | + | - | - | - |
| 9 | Легкая | - | - | + | - |
| 10 | Легкая | - | - | - | - |
| 11 | Легкая | + | + | + | - |
| 12 | Тяжелая | - | - | - | - |
| 13 | Тяжелая | + | + | - | - |
| 14 | Тяжелая | + | + | - | - |
| 15 | Тяжелая | + | + | - | - |
| 16 | Тяжелая | + | + | - | - |
| 17 | Тяжелая | + | + | - | - |
| 18 | Тяжелая | - | - | - | - |
| 19 | Тяжелая | + | + | - | - |
| 20 | Тяжелая | + | + | - | + |
| 21 | Тяжелая | + | + | - | - |
| 22 | Средняя | + | + | - | - |
| 23 | Средняя | - | - | - | - |
| 24 | Средняя | + | + | + | + |
| 25 | Средняя | + | + | - | - |
| 26 | Средняя | + | + | - | - |
| 27 | Средняя | + | - | - | - |
| 28 | Средняя | - | - | - | - |
| 29 | Средняя | + | - | - | + |
| 30 | Средняя | - | - | - | - |
| 31 | Средняя | + | + | + | + |
| 32 | Средняя | + | + | + | + |
| 33 | Тяжелая | + | + | + | + |

Продолжение таблицы 3.3.1.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 34 | Тяжелая | + | + | + | + |
| 35 | Тяжелая | + | + | + | + |
| 36 | Тяжелая | + | + | + | + |
| 37 | Тяжелая | + | + | + | + |
| 38 | Легкая | + | + | + | - |
| 39 | Легкая | - | + | - | + |
| 40 | Средняя | + | + | + | + |
| 41 | Средняя | + | + | + | - |

**Таблица 3.3.2.**

Выявленные пародонтопатогены у пациентов контрольной группы методом ПЦР- диагностики

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № пациента | Степень тяжести | ***P. gingivalis*** | ***T. denticola*** | ***T. forsythia*** | ***P. intermedia*** |
| 51 | Легкая | - | - | + | - |
| 52 | Легкая | + | - | + | + |
| 53 | Легкая | + | - | + | + |
| 54 | Легкая | + | + | + | - |
| 55 | Легкая | + | + | + | - |
| 56 | Легкая | + | + | + | - |
| 57 | Легкая | - | + | - | - |
| 58 | Легкая | - | - | - | - |
| 59 | Легкая | + | + | + | - |
| 60 | Легкая | - | + | - | - |
| 61 | Легкая | + | - | + | + |
| 62 | Легкая | + | - | + | - |
| 63 | Легкая | + | + | + | - |

Продолжение таблицы 3.3.2.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 64 | Легкая | - | + | - | - |
| 65 | Легкая | + | + | + | - |
| 66 | Тяжелая | + | - | + | - |
| 67 | Средняя | + | + | + | - |
| 68 | Средняя | + | + | + | - |
| 69 | Средняя | + | - | + | - |
| 70 | Средняя | + | + | + | - |
| 71 | Средняя | + | - | + | - |
| 72 | Средняя | + | + | + | - |
| 73 | Средняя | + | - | - | - |
| 74 | Средняя | + | - | + | - |
| 75 | Средняя | + | + | + | - |
| 76 | Тяжелая | + | - | + | - |
| 77 | Тяжелая | + | + | + | - |
| 78 | Тяжелая | + | - | + | - |
| 79 | Тяжелая | + | - | + | + |
| 80 | Тяжелая | + | - | + | + |
| 81 | Тяжелая | + | + | + | - |
| 82 | Тяжелая | + | + | + | + |
| 83 | Тяжелая | + | + | + | + |

На рисунках 3.3.1. и 3.3.2. представлены примеры идентификации *T. forsythia* и *P. intermedia* методом ПЦР в образцах 31-56, полученных из пародонтальных карманов пациентов основной и контрольной групп.



**Рис. 3.3.1.** ДНК-фрагменты после ПЦР и разделения в 1% агарозном геле

Обозначения:

1 – ДНК-маркер (100 – 1500 пн);

2-20 - *T. forsythia* в образцах 31-56;

20 – отрицательный контроль на *T. forsythia;*



**Рис. 3.3.2.** ДНК-фрагменты после ПЦР и разделения в 1% агарозном геле

Обозначения:

1 – ДНК-маркер (100 – 1500 пн);

2-20 - *P. intermedia* в образцах 31-56;

20 – отрицательный контроль на *P. intermedia;*

Пародонтопатогены «красного» (*P. gingivalis, T. forsythia, T. denticola)* и «оранжевого» (*P. intermedia*) комплексов были обнаружены в пародонтальных карманах у 85% пациентов основной группы и у 96% контрольной группы. В группе здоровых пациентов пародонтопатогены не были выявлены.

Анализ результатов ПЦР показал следующее распределение по частоте встречаемости основных пародонтопатогенных микроорганизмов у пациентов основной группы: *P. gingivalis* (71%, 29 пациентов), *T. forsythia* (39%, 16 пациентов), *T. denticola* (68%, 28 пациентов), *P. intermedia* (32%, 13 пациентов), что отражено на рисунке 3.3.3.

**Рис. 3.3.3.** Частота встречаемости пародонтопатогенных микроорганизмов в основной группе

Анализ результатов ПЦР показал следующее распределение по частоте встречаемости основных пародонтопатогенных микроорганизмов у пациентов контрольной группы: *P. gingivalis* (85%, 28 пациентов), *T. forsythia* (85%, 28 пациентов), *T. denticola* (55%, 18 пациентов), *P. intermedia* (21%, 7 пациентов), что отражено на рисунке 3.3.4.

Сравнивая частоту встречаемости основных пародонтопатогенов «красного» и «оранжевого» комплексов между основной и контрольной группами пациентов, следует отметить существенную разницу в обнаружении *T. forsythia,* которуюв два раза чаще идентифицировали в пародонтальных карманах у пациентов контрольной группы (рис. 3.3.3. и 3.3.4.).

**Рис. 3.3.4.** Частота встречаемости пародонтопатогенных микроорганизмов в контрольной группе

Основные пародонтопатогены в пародонтальных карманах у пациентов основной группы были представлены неоднородно. Независимо от степени тяжести ХГП в основной группе наблюдали преобладание микроорганизмов *P. gingivalis и T. denticola.* Одновременно с этим у данной группы пациентов наблюдали возрастающуюя динамику обнаружения пародонтопатогенов *- P. gingivalis, T. denticola и P. intermedia* с увеличением степени тяжести ХГП (рис. 3.3.5.).

У пациентов основной группы с ХГП легкой степени тяжести микроорганизмы *P. gingivalis* и *T. forsythia* были выявлены в 46% случаев, *T. denticola* была выявлена в 54% случаев и *P. intermedia* – в 15% случаев.

У пациентов основной группы с ХГП средней степени тяжести микроорганизм *P. gingivalis* обнаруживали в 77% случаев, T. denticola была выявлена в 60% случаев, а *T. forsythia* и *P. intermedia* – в 39% случаев.

**Рис. 3.3.5.** Частота встречаемости основных пародонтопатогенных микроорганизмов в основной группе по степеням тяжести

У пациентов основной группы с ХГП тяжелой степени тяжести микроорганизмы *P. gingivalis* и *T. denticola* обнаруживали в 87% случаев, *T. forsythia* была выявлена в 33% случаев и *P. intermedia* – в 40% случаев, что представлено на рисунке 3.3.5.

Основные пародонтопатогены в пародонтальных карманах у пациентов контрольной группы также были представлены неоднородно. При всех степенях тяжести ХГП в контрольной группе наблюдали преобладание микроорганизмов *P. gingivalis* и *T. denticola.* У данной группы пациентов наблюдали возрастающую динамику обнаружения пародонтопатогенов *– P. gingivalis, T. denticola* и *P. intermedia с* увеличением степени тяжести ХГП (рис. 3.3.6.).

У пациентов контрольной группы с ХГП легкой степени тяжести микроорганизмы *T. forsythia* была выявлена в 73% случаев, *P. gingivalis* была обнаружена в 67% случаев. *P. gingivalis* и *P. intermedia* были выявлены в 67% и в 20% случаев, соответственно.

У пациентов контрольной группы с ХГП средней степени тяжести микроорганизм *P. gingivalis* был выявлен в 100% случаев, *T. forsythia* была выявлена в 89% случаев, а *T. denticola-* в 56% случаев. *P. intermedia* не обнаруживали.

**Рис. 3.3.6.**Частота встречаемости основных пародонтопатогенных микроорганизмов в контрольной группе по степеням тяжести

У пациентов контрольной группы с ХГП тяжелой степени тяжести микроорганизмы *P. gingivalis* и *T. forsythia* обнаруживали в 100% случаев, *T. forsythia* и *P. intermedia* были выявлены в 40% случаев, что представлено на рисунке 3.3.6.

Сравнивая полученные результаты между основной и контрольной группами пациентов, следует отметить рост частоты встречаемости *P. gingivalis* и *P. intermedia* в обеих группах в ходе развития ХГП (3.3.5. и 3.3.6.). В основной группе пациентов в ходе развития ХГП также наблюдали рост обнаружения *T. denticola* одновременно с незначительным падением *T. forsythia* (3.3.5.).

В контрольной группе пациентов в ходе развития ХГП наблюдали противоположные тенденции: выраженный рост обнаружения *T. forsythia* (с 73% до 100%) одновременно с незначительным падением *T. denticola* (рис. 3.3.6.).

Известно, что при развитии ХГП пародонтопатогены часто обнаруживают в ассоциациях друг с другом. Среди комплексов пародонтопатогенов особенно выделяют «красный» комплекс, который по утверждению ряда исследователей связан с развитием наиболее агрессивных форм пародонтита. Вследствие вышесказанного был проведен анализ частоты встречаемости комплексов исследованных пародонтопатогенов в ходе развития ХГП.

У пациентов основной группы с ХГП легкой степени тяжести были обнаружены одиночные пародонтопатогены в 33,3% случаев, комплекс из двух пародонтопатогенов в 33,3%, в 25% случаев – комплекс из трех пародонтопатогенов (рис. 3.3.7.).

У пациентов со средней степенью тяжести ХГП одиночные пародонтопатогены выявляли в 7,6% случаев, комплекс из двух пародонтопатогенов – в 30,7% случаев, комплекс из трех пародонтопатогенов – в 7,7% случаев, комплекс из четырех пародонтопатогенов – в 31% случаев (рис. 3.3.7.).

**Рис. 3.3.7.** Зависимость степени тяжести ХГП и количества пародонтопатогенов в пародонтальных карманах в основной группе

У пациентов с ХГП тяжелой степени тяжести был обнаружен комплекс из двух пародонтопатогенов в 50% случаев, в 7% случаев – комплекс из трех пародонтопатогенов, и в 36% случаев из четырех пародонтопатогенов. Одиночные пародонтопатогены выявлены не были. Все данные представлены на рисунке 3.3.7.

У пациентов контрольной группы с ХГП легкой степени тяжести были обнаружены одиночные пародонтопатогены в 27% случаев, комплекс из двух пародонтопатогенов - в 6%, в 60% случаев – комплекс из трех пародонтопатогенов (рис. 3.3.8).

У пациентов со средней степенью тяжести ХГП одиночные пародонтопатогены выявляли в 11% случаев, комплекс из двух пародонтопатогенов – в 33% случаев, комплекс из трех пародонтопатогенов – в 56% случаев.

Одиночные пародонтопатогены выявлены не были (рис. 3.3.8).

**Рис. 3.3.8.** Зависимость степени тяжести ХГП и количества пародонтопатогенов в пародонтальных карманах в контрольной группе

У пациентов с ХГП тяжелой степени тяжести был обнаружен комплекс из двух пародонтопатогенов в 34% случаев, в 44% случаев – комплекс из трех пародонтопатогенов и в 22% случаев из четырех пародонтопатогенов. Одиночные пародонтопатогены выявлены не были. Все данные представлены на рисунке 3.3.8.

Сравнивая полученные результаты основной и контрольной групп необходимо отметить появление комплексов из четырех пародонтопатогенов в основной группе пациентов уже на средней стадии пародонтита (в 31% случаев). В контрольной группе пациентов преобладают комплексы из трех пародонтопатогенов на всех стадиях развития ХГП (3.3.8.). В то время как комплекс из четырех пародонтопатогенов встречается только на тяжелой стадии пародонтита (в 22% случаев). Важно указать, что в обеих группах пациентов при тяжелой степени пародонтита пародонтопатогены обнаруживаются исключительно в составе комплексов.

Таким образом, с развитием ХГП в основной и контрольной группах очевидна возрастающая динамика обнаружения пародонтопатогенов «красного» и «оранжевого» комплексов, которая сопровождается более интенсивным образованием комплексов пародонтопатогенов.

**ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ**

## Заключение

Целью настоящего исследования являлась оценка качественного состава микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с СД 2 типа.

В ходе исследования были изучены особенности стоматологического и пародонтологического статуса пациентов основной и контрольной групп, особенности качественного состава микробиоты пародонтальных карманов. Проведена оценка роли пародонтопатогенов в развитии ХГП в контрольной и основной группах.

В соответствии с поставленными задачами было проведено обследование 74 пациентов (42 женщин и 32 мужчин) в возрасте от 30 до 69 лет (средний возраст составил 50,7±8,7 лет).

Были собраны жалобы пациентов и анамнез; использованы клинические, рентгенологические и микробиологические методы исследования.

По итогам анализа результатов клинического и рентгенологического исследования больным из основной и контрольной групп были поставлены соответствующие диагнозы.

ХГП тяжелой степени выявлен у 15 человек основной группы (37,5%), ХГП средней степени тяжести – у 13 пациентов основной группы (32%), ХГП легкой степени тяжести – у 13 пациентов основной группы (32,5%).

ХГП тяжелой степени был диагностирован у 9 пациентов контрольной группы (27,3%), ХГП средней степени тяжести – у 9 пациентов контрольной группы (27,3%), легкой степени тяжести – у 15 пациентов контрольной группы (45,5%).

Анализ жалоб пациентов основной и контрольной групп показал, что у пациентов с СД 2 типа значительно возрастает процент предъявляемых жалоб на зуд и жжение в деснах, неприятный запах из полости рта и подвижность зубов.

При осмотре полости рта кариес зубов и его осложнения были выявлены у всех пациентов основной и контрольной групп. Показатель КПУ составил 22,8±4,2 и 16,8±4,4 соответственно, что говорит об очень высоком уровне интенсивности кариеса в обеих группах. Кроме того, отмечается значительное увеличение индекса КПУ у пациентов основной группы относительно данного показателя у пациентов контрольной группы (р<0,05).

При анализе индексов гигиены полости рта и пародонтологических выявлены статистически значимые различия индексов РМА, CPITN, BOP у пациентов основной и контрольной групп.

Таким образом, у пациентов с СД 2 типа значения пародонтологических индексов значительно превышают их у пациентов без СД 2 типа. Статистически значимых различий между индексами гигиены основной и контрольной групп выявлено не было.

Отмечается возрастающая динамика значений пародонтологических индексов (РМА, CPITN, BOP) у обследованных пациентов основной и контрольной групп с ХГП внутри каждой группы с увеличением тяжести заболевания. Выявлены статистически значимые различия между значениями этих индексов в подгруппах между основной и контрольной группами (p<0,05).

При оценке индексов гигиены обследованных пациентов основной и контрольной групп отмечается возрастающая динамика значений индексов гигиены OHI-S и Silness, Loe по мере увеличения тяжести ХГП. Статистически значимых различий при анализе значений индексов гигиены между подгруппами основной и контрольной групп не выявлено.

В результате корреляционного анализа была выявлена зависимость между тяжестью заболевания ХГП и значениями гигиенических и пародонтологических индексов. В результате анализа были получены коэффициенты корреляции: Silness, Loe = 0,51 и 0,21; OHI−S =0,6 и 0,4, РМА=0,7 и 0,8, CPITN=0,6 и 0,5, ВОР=0,3 и 0,4 соответственно, что подтверждает наличие прямой связи этих параметров с достоверностью р=0,05.

В результате корреляционного анализа была обнаружена тесная взаимосвязь между степенью тяжести патологии пародонта у пациентов с СД 2 типа и уровнем гликолизированного гемоглобина, а также между степенью тяжести патологии пародонта у пациентов с СД 2 типа и уровнем глюкозы. Для основной группы были получены коэффициенты корреляции = 0,74 и 0,71 соответственно, что подтверждает наличие прямой сильной связи этих параметров с достоверностью р=0,05.

Это свидетельствует о том, что у пациентов с СД 2 типа с увеличением уровня гликолизированного гемоглобина и уровня глюкозы в крови происходит прогрессирование ХГП.

Согласно результатам, полученным при анализе ортопантомограмм, следует, что у обследованных пациентов обеих групп по мере прогрессирования тяжести ХГП увеличивается количество костных карманов. У пациентов основной и контрольной групп различия между количеством обнаруженных костных карманов статистически не значимы.

Проведенное ПЦР – исследование на пародонтопатогены выявило наличие пародонтопатогенов «красного» (*P. gingivalis, T. forsythia, T. denticola)* и «оранжевого» (*P. intermedia*) комплексов, которые обладают агрессивным действием на пародонт, вызывая сильную кровоточивость десен и быстрое течение деструктивных процессов в пародонте.

В основной группе вышеперечисленные пародонтопатогены выявлены в 85% случаев, а в контрольной группе в 96% случаев.

В группе здоровых пациентов исследуемые пародонтопатогены не были выявлены.

Пародонтопатогены в пародонтальных карманах у пациентов с ХГП различной степени тяжести основной и контрольной групп были представлены неоднородно.

При всех степенях тяжести ХГП в основной и контрольной группах группе наблюдалось преобладание микроорганизма *P. gingivalis* (71% и 85%соответственно*).* Однако в основной группе также была обнаружена и преобладала *T. denticola* в68% случаев*,* а в контрольной группе *T. forsythia* в 85% случаев.

У пациентов основной группы наблюдалась возрастающая динамика обнаружения пародонтопатогенов красного комплекса с увеличением степени тяжести ХГП - *P. gingivalis* - 46%, 77%, 87% при ЛСТ, ССТ и ТСТ соответственно и *T. denticola* 54%, 62%, 87% при ЛСТ, ССТ и ТСТ соответственно.

У пациентов контрольной группы также выявлена возрастающая динамика обнаружения пародонтопатогенов красного косплекса с увеличением степени тяжести ХГП - *P. gingivalis* - 67%, 100%, 100% при ЛСТ, ССТ и ТСТ соответственно и *T. forsythia* 73%, 89%, 100% при ЛСТ, ССТ и ТСТ соответственно.

## Таким образом, с развитием ХГП очевидна возрастающая динамика обнаружения пародонтопатогенов «красного» комплекса, которая сопровождается более интенсивным образованием комплексов пародонтопатогенов.

## Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют об агрессивном воздействии *P. gingivalis, T. forsythia, T. denticola* и *P. intermedia* на ткани пародонта.

## Все поставленные задачи исследования были выполнены и сделаны соответствующие выводы.

## Выводы:

## 1. Особенностями стоматологического и пародонтологического статуса пациентов с ХГП легкой, средней и тяжелой степени тяжести и сопутствующим СД 2 типа являются:

## Очень высокий уровень интенсивности кариеса (индекс КПУ); значения индекса КПУ пациентов с ХГП и СД 2 типа статистически достоверно превышали данные полученные у пациентов с ХГП без СД 2 типа (р<0,001).

## Более выраженная воспалительная реакция тканей пародонта по сравнению с пациентами с ХГП без СД 2 типа, что подтверждается данными клинического обследования и индексной оценки состояния тканей пародонта - индексами РМА, CPITN, BOP.

## Выявлена прямая сильная связь между степенью тяжести патологии пародонта и уровнем гликолизированного гемоглобина/ глюкозы в крови у пациентов с СД 2 типа (r=0,74 и r=0,72, р<0,05).

2. При ХГП у пациентов с СД 2 типа в пародонтальных карманах на первом месте по частоте встречаемости среди исследованных пародонтопатогенов оказались *P. gingivalis* и *T. denticola* (71% и 68% случаев, соответственно).

С увеличением степени тяжести ХГП регистрировали возрастающую динамику частоты обнаружения *P. gingivalis, T. denticola* и *P. intermedia.*

3. Воспалительные изменения в тканях пародонта в процессе развития ХГП из легкой в тяжелую степень у пациентов с СД 2 типа сопровождаются снижением обнаружения одиночных пародонтопатогенов одновременно с возрастающей тенденцией группирования их в различные комплексы. Причем процесс образования более крупных комплексов происходит быстрее по сравнению с пациентами без СД 2 типа.

**Практические рекомендации:**

При планировании комплексного лечения пациентов с ХГП и сопутствующим СД 2 типа следует учитывать особенности стоматологического, пародонтологического статуса и качественного состава микробиоты пародонтальных карманов.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

**Книги:**

1. Артюшевич А.С., Трофимова Е.К., Латышева С.В. Клиническая периодонтология: Практ.пособие. - Москва, 2002. - 303с.
2. Барер Г.М. Терапевтическая стоматология, часть 2. Заболевания пародонта. - Москва, 2013. – 224 с.
3. Боровский Е. В., Леонтьев В. К. Биология полости рта. – Москва,2001. – 303с.
4. Боровский Е. В. Терапевтическая стоматология: Учебник для студентов медицинских вузов. – Москва, 2003. – 840с.
5. Герберт Ф. Вольф, Эдит М. Ратейцхак, Клаус Ратейцхак. Пародонтология. По ред. проф. Г.М. Барера. – Казань,2007. – 548с.
6. Григорьян А. С., Грудянов А. И., Рабухина Н. А. Болезни пародонта: Патогенез, диагностика, лечение. – Москва, 2004. – 320 с.
7. Григорьян А. С., Рахметова С. Ю., Зырянова Н. В. Микроорганизмы в заболеваниях пародонта: экология, патогенез, диагностика. – Москва, 2007. – 56 с.
8. Грудянов А. И., Овчинникова В. В, Дмитриева Н. А. Антимикробная и противовоспалительная терапия в пародонтологии. – Москва, 2004. – 80 с.
9. Данилевский Н. Ф., Борисенко А. В. Заболевания пародонта. - Киев, 2000. – 464 с.
10. Дмитриева Л. А. Пародонтит. – Москва, 2007.– 504 с.
11. Дмитриева Л. А. Пародонтология. Национальное руководство.- Москва, 2013. – 712 с.
12. Елисеева А.Ф. Сочетание поражений пародонта и сердечно-сосудистых заболеваний. Клинико - морфологическое и микробиологическое исследование. - СПб, 2014.
13. Зеленова Е. Г., Заславская М. И., Салина Е. В. Микрофлора полости рта: норма и патология. Учебное пособие. Нижний Новгород, 2004. – 158 с.
14. Иванов В. С. Заболевания пародонта, 3 - е изд. – Москва, 1998. – 296 с.
15. Лабинская А. С., Костюкова Н. Н. Руководство по медицинской микробиологии. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. - Москва, 2008. – 441с.
16. Максимовский Ю. М., Дмитриева Л. А. Терапевтическая стоматология. Национальное руководство. – Москва, 2009. 912 с.
17. Маркина Т. В., Майборода Ю. Н., Урясьева Э. В. Бактериальный спектр слизистой оболочки органов рта и пародонтальных карманов у пациентов с пародонтитом.– Медицинский вестник Северного Кавказа, Т.8, №1– 2013. – 45 – 47 с.
18. Мюллер Х. П. Пародонтология. Науч. ред. изд. на русск. яз. проф. А. М. Политун, пер. с нем. – Львов, 2004. – 256 с.
19. Орехова Л. Ю. Заболевания пародонта. – Москва, 2004. – 432с.
20. Ричард Дж. Ламонт, Роберт А. Берне. Микробиология и иммунология для стоматологов. Под ред. проф. В.К. Леонтьева. – Москва, 2010. – 502 с.
21. Семина Н. А., Сидоренко С. В. Методические указания МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. - Москва, 2004.
22. Царев В. И., Давыдова М.М. Микробиология полости рта. – Москва, 2008. – 50 с.
23. Царев В. И., Ушаков Р. В. Антимикробная терапия в стоматологии. – Москва, 2006. – 144 с.
24. Царев В. И., Ушаков Р. В. Местное антимикробное лечение в стоматологии. – Москва, 2004. – 136 с.
25. Цепов Л. М., Николаев А. И., Михеева Е. А. Диагностика, лечение и профилактика заболеваний пародонта, 3-е изд. - Москва, 2008. – 272с.
26. Юдина Н.А., Люговская А.В., Курочкина А.Ю. Антимикробная терапия при лечении болезней периодонта: Учебно – методическое пособие. – Минск, 2009. – 44 с.
27. Янушевич О.О. Медицинская и клиническая генетика для стоматологов. -Москва, 2008.

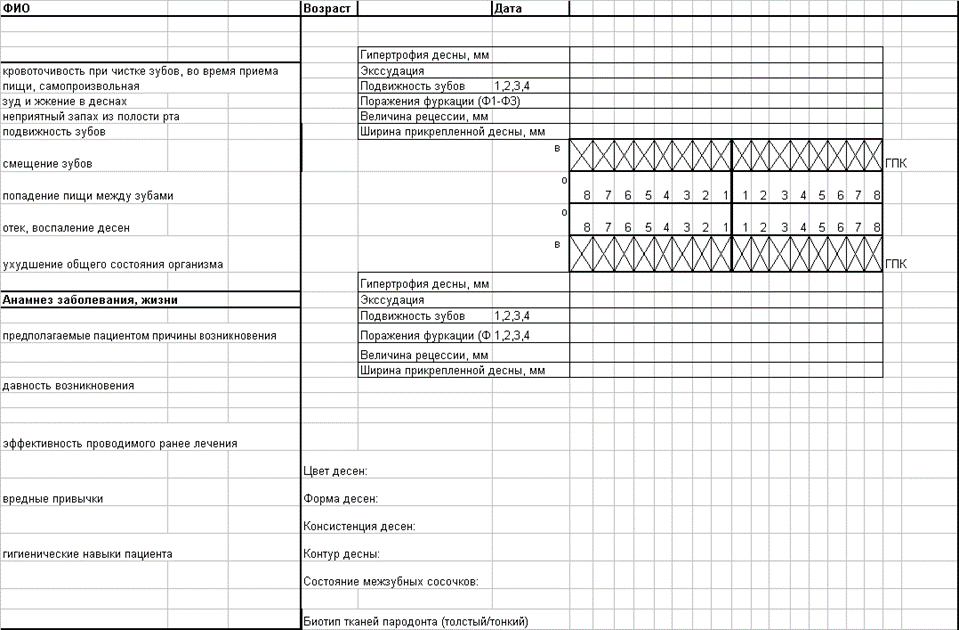
**Статьи из журналов:**

1. Булкина Н.В., Моргунова В.М., Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. Особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита- Москва, 2016
2. Володина Е. В., Багдасарян В. А. Анализ чувствительности микробных ассоциаций, выделенных у пациентов с пародонтитом, к антибиотикам. – Электронный научно-образовательный вестник. Здоровье и образование в ХХI веке. Т 16 (12). – 2014.
3. Волошина А. А. Значение микробного фактора в развитии и течении воспалительных заболеваний пародонта. – Москва, журнал «Молодой ученый» №1, 2011. – 248 - 251 с.
4. Плахтий Л.Я. Дифференцированное применение антибиотиков в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита- Москва Сборник материалов, 2001.
5. Тамарова Э. Р., Масагутова Н. Р. Молекулярно – генетическая характеристика микрофлоры полости рта при пародонтите.– Вестник Челябинского государственного университета, № 7 (298), выпуск 2. -70 – 71 с. - 2013.
6. Тумшевиц О. Н. Современная клиническая медицина: изучение этиологии и патогенеза заболеваний, разработка методов их профилактики, диагностики и лечения. Сборник материалов международной научной конференции, Москва, 2013. - Киров, 2013. – 367 с.
7. Чухловин А. Б., Соловьева А. М., Матело С.К. Микробные маркеры заболеваний пародонта и их практическая значимость в стоматологии. - Бюллетень экспериментальной биологии и медицины , 2007. - 5с.
8. Шарапудинова М. Г. Эффективность комплексного лечения пародонтита с применением антибиотиков по результатам теста индивидуальной чувствительности микрофлоры. – Москва, 2009. – 113 с.

**ПРИЛОЖЕНИЕ**

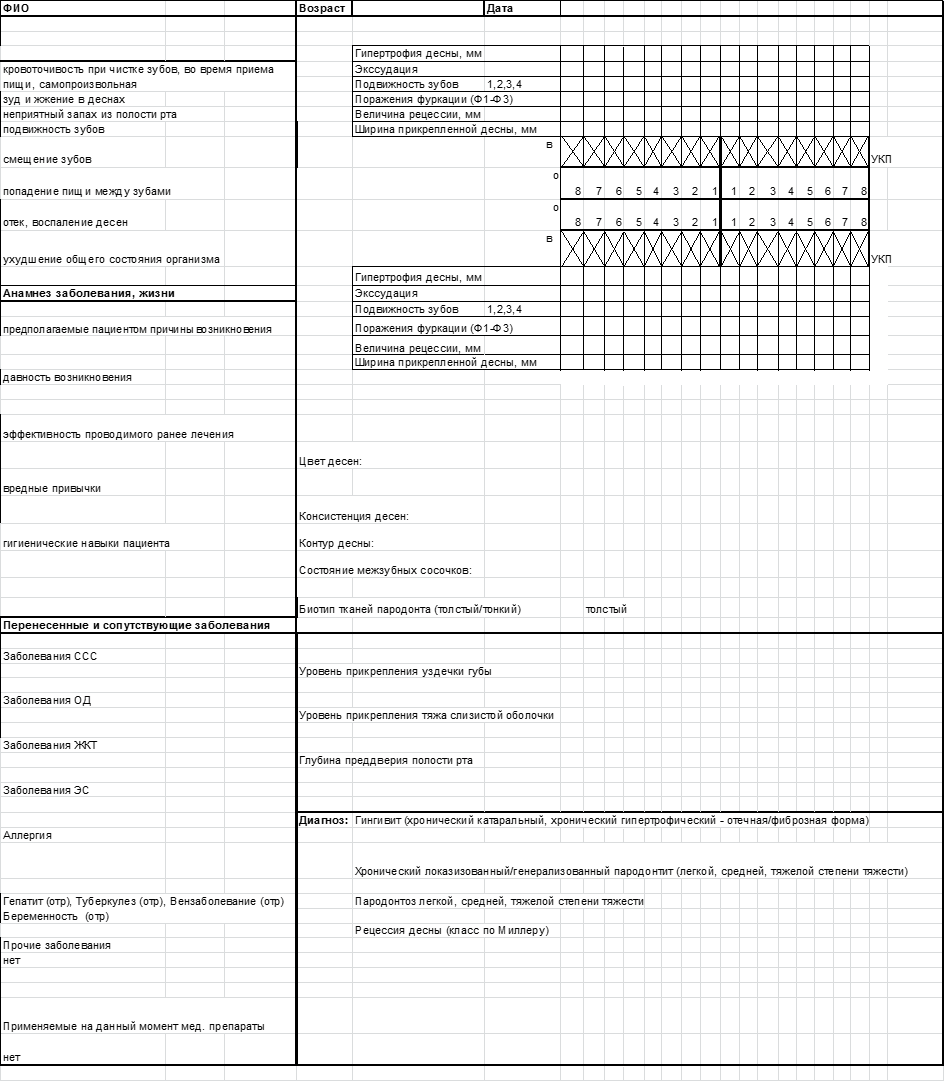
Приложение 1.

Карта обследования стоматологического больного. Страница 1



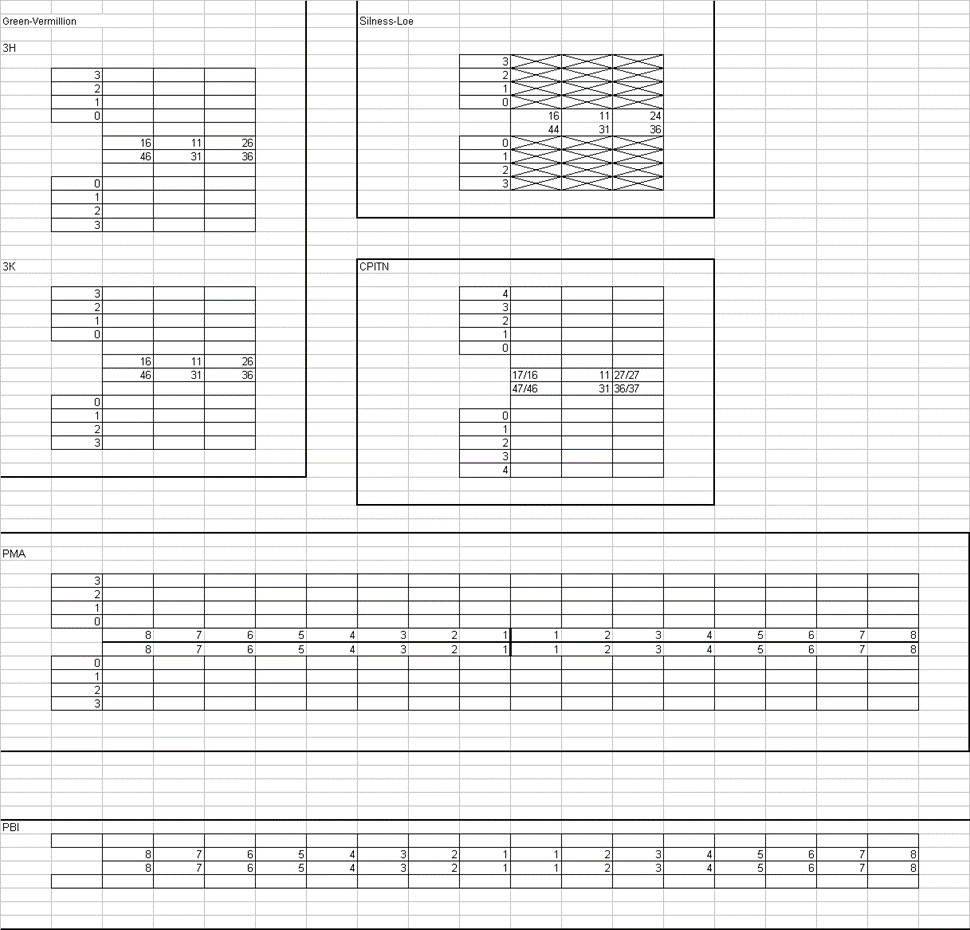
Приложение 1.

Карта обследования пациента. Страница 1 (продолжение)



Приложение 2

Карта обследования пациента. Страница 2 (Продолжение)



Приложение 3

Карта обследования пациента. Страница 3

