Санкт-Петербургский государственный университет

**Таланцева Ольга Николаевна**

**Выпускная квалификационная работа**

**Эффективность комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита с местным применением препарата пролонгированного действия у пациентов с сахарным диабетом II типа**

Уровень образования:

Направление 31.05.03 «Стоматология»

Основная образовательная программа СМ.5059.2015 «Стоматология»

**Научный руководитель:**

к.м.н., доцент Михайлова

Екатерина Станиславовна

**Научный руководитель:**

к.б.н., доцент Королева

Ирина Владимировна

**Рецензент:**

к.м.н., доцент, главный врач

ООО «Стоматологический центр «Петродент»

Шторина Галина Борисовна

## **Оглавление**

[Оглавление 2](#_Toc41085079)

[Введение 4](#_Toc41085080)

[Актуальность: 4](#_Toc41085081)

[Цель исследования: 6](#_Toc41085082)

[Задачи исследования: 6](#_Toc41085083)

[Научная новизна работы: 6](#_Toc41085084)

[Практическая значимость: 7](#_Toc41085085)

[Глава 1. Литературный обзор. 8](#_Toc41085086)

[1.1 Этиология и патогенез сахарного диабета II типа. 8](#_Toc41085087)

[1.2 Этиология и патогенез воспалительных процессов в пародонте. 10](#_Toc41085088)

[1.3 Влияние сахарного диабета II типа на состояние тканей пародонта. 15](#_Toc41085089)

[1.4 Препараты местного действия, применяемые при воспалительных процессах пародонта. 19](#_Toc41085090)

[Глава 2. Материалы и методы исследования 27](#_Toc41085091)

[2.1 Клиническая характеристика пациентов 27](#_Toc41085092)

[2.2 Оценка стоматологического статуса 29](#_Toc41085093)

[2.3 Рентгенологический метод исследования 34](#_Toc41085094)

[2.4 Микробиологические методы исследования 34](#_Toc41085095)

[2.5 Иммунологические методы исследования 37](#_Toc41085096)

[2.6 Методы компьютерного анализа. 39](#_Toc41085097)

[Глава 3. Результаты исследований 41](#_Toc41085098)

[3.1 Результаты клинических исследований 41](#_Toc41085099)

[3.2 Результаты рентгенологического исследования 52](#_Toc41085100)

[3.3 Результаты микробиологического исследования. 52](#_Toc41085101)

[3.4 Результаты иммунологического исследования 60](#_Toc41085102)

[Заключение 62](#_Toc41085103)

[Выводы: 63](#_Toc41085104)

[Практические рекомендации: 65](#_Toc41085105)

[Список литературы: 66](#_Toc41085106)

[Приложение 71](#_Toc41085107)

**Условные обозначения**

ИР-инсулинорезистентность

ФДЭ – фосфодиэстераза

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

ВОР –Bleeding On Probing – индекс кровоточивости при зондировании

CPITN – Community Periodontal Index of Treatment Needs – индекс нуждаемости в пародонтологическом лечении

OHI–S – Oral Hygiene Indices–Simplified – упрощенный индекс гигиены полости рта

РМА – папиллярно–маргинально–альвеолярный индекс

## **Введение**

### **Актуальность:**

Воспалительные процессы в тканях пародонта являются одной из наиболее распространенных проблем в стоматологии, поскольку, несмотря на эффективность современной стоматологической помощи, число нуждающихся в лечении остается значительным. Согласно наблюдениям, именно заболевания пародонта способны привести к наиболее существенным расстройствам зубочелюстной системы, так как обуславливают потерю зубов чаще, чем это происходит при осложнениях кариеса. [1; 2].

Особое место среди воспалительных заболеваний пародонта занимает хронический генерализованный пародонтит, характеризующийся высокой распространенностью и сложностью в достижении радикальных успехов в лечении. Ведущую роль в его возникновении играет микробный фактор. «Существуют целые колонии ассоциативной пародонтопатогенной микрофлоры, проявляющей свою наибольшую активность в условиях зубодесневой борозды и пародонтальных карманов». [3] Однако, на воспалительный процесс оказывает влияние и общесоматическое состояние макроорганизма, которое подвержено различным факторам риска. Одним из таких факторов является наличие эндокринной патологии, а именно сахарного диабета II типа.

Сахарный диабет II типа представляет собой серьезную медико-социальную проблему. По данным медицинской литературы отмечается, что в большинстве стран эта патология имеет тенденцию к неуклонному росту и сопровождается множественным поражением органов и систем (сердечно-сосудистой, опорно-двигательной, органов зрения и др.), в том числе и зубочелюстной, что приводит к нарушению жизненно важных функций организма [4; 5; 6].

Согласно исследованиям, воспалительные процессы пародонта, являются шестым осложнением диабета наряду с нейропатией, нефропатией, ретинопатией, микро- и макрососудистыми заболеваниями. [7; 8] Специфические изменения метаболизма, характерные для данного заболевания, через цепочку патологических механизмов оказывают серьезное воздействие на состояние пародонтальных тканей и нередко являются причиной возникновения быстро прогрессирующего генерализованного пародонтита. Кроме того, наблюдается усиление патогенного влияния микрофлоры, развивающееся на фоне снижения иммунологической реактивности организма, что приводит к низкой эффективности проводимого лечения или уменьшению продолжительности терапевтического эффекта. Данные обстоятельства диктуют необходимость совершенствования способов лечения воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с сахарным диабетом II типа.

Новейшими разработками в клинической пародонтологии являются лекарственные препараты, иммобилизирующие антибиотики на различных биополимерных матрицах, способные обеспечивать длительное и сравнительно равномерное высвобождение препарата в окружающую среду, создавая его высокую местную концентрацию без значительного повышения уровня антибиотиков в системной циркуляции [9; 10].

Таким образом, разработка и внедрение в схему лечения использование антисептических препаратов с локальным пролонгированным действием является перспективным направлением для лечения хронического генерализованного пародонтита у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом II типа.

**Цель исследования:** клинико-микробиологическая и иммунологическая оценка эффективности комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита с местным применением препарата пролонгированного действия у пациентов с сахарным диабетом II типа.

### **Задачи исследования:**

1. Изучить качественный состав микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести;
2. Изучить динамику клинико-микробиологических и иммунологических показателей при местном применении препарата пролонгированного действия «M-Chip» у пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести;
3. На основании проведенного анализа клинико-микробиологических и иммунологических данных оценить эффективность местного применения препарата пролонгированного действия «M-Chip» у пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести.

### **Научная новизна работы:**

Проведена клиническая, иммунологическая и микробиологическая оценка эффективности комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести с местным применением препарата пролонгированного действия «M-Chip» у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом II типа.

### **Практическая значимость:**

Обоснована клиническая эффективность местного применения препарата «M-Chip» в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом II типа. Для достижения стойкой и длительной ремиссии воспалительного заболевания пародонта у пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести рекомендовано дополнение схемы лечения системным приемом антибактериальных препаратов.

## **Глава 1. Литературный обзор.**

### **1.1 Этиология и патогенез сахарного диабета II типа.**

Для сахарного диабета II типа характерны нарушения углеводного обмена, которые сопровождаются выраженной инсулинорезистентностью с дефектом секреции инсулина или с преимущественным нарушением секреции инсулина и умеренной инсулинорезистентностью.

По этиологии данная патология представляет собой гетерогенное заболевание, развивающееся в результате сочетания врожденных и приобретенных факторов. Наиболее значимую роль отводят генетической предрасположенности. «По мнению Robertson R.P., основу патогенеза составляет персональный геном человека, содержащий гены, готовые под воздействием фактором окружающей среды вызвать развитие заболевания с известными клиническими последствиями гипергликемии». [11]

Успехи в генной технологии и аналитических подходах позволили найти и идентифицировать гены, связанные с сахарным диабетом II типа. Было обнаружено более 70 локусов, связанных с патологией. «Кроме этого, были установлены 53 локуса, связанные с динамическими изменениями уровней инсулина и глюкозы, из которых 33 также связаны с сахарным диабетом II типа». [11] Часть из них связана с ожирением и инсулинорезистентностью, а также с функционированием β-клеток поджелудочной железы. Однако до сих пор нельзя точно утверждать, что развитие диабета - следствие только генетического дефекта; также как невозможно считать, что причиной болезни является сложная комбинация генов, вызывающих патологический процесс.

В развитии диабета выделяют два фундаментальных патофизиологических дефекта:

* инсулинорезистентность
* нарушение функции β-клеток поджелудочной железы.

ИР – состояние, при котором наблюдается недостаточный биологический ответ клеток на инсулин при его достаточной концентрации в крови. Возможно несколько механизмов развития данного состояния:

* за счет снижения количества рецепторов к инсулину;
* изменения структуры и функций их отдельных субъединиц;
* нарушение активности белков-переносчиков глюкозы;
* изменение активности ФДЭ и внутриклеточного цАМФ.

Со стороны островкового аппарата поджелудочной железы производится ответ на инсулинорезистентность в виде компенсаторного усиления секреции инсулина, что в течение определенного промежутка времени позволяет преодолевать имеющуюся инсулиновую резистентность и препятствовать развитию стойкой гипергликемии.

Однако хроническая гиперинсулинемия уменьшает число рецепторов на клетках мишенях, что приводит к десенсетизации, в результате чего инсулинорезистентность усиливается. β-клетки постепенно утрачивают способность реагировать на гипергликемию, а именно продуцируют количество инсулина, недостаточное для полной нормализации уровня глюкозы, имеющего постоянную тенденцию к возрастанию из-за существующей и нарастающей инсулинорезистентности.

Таким образом, возникает относительный дефицит инсулина на фоне компенсаторной гиперинсулинемии. «Длительное активное компенсаторное функционирование β-клеток сопровождается их декомпенсацией, что приводит к постепенному переходу инсулиновой недостаточности из относительной в абсолютную». [12, стр.22]

### **1.2 Этиология и патогенез воспалительных процессов в пародонте.**

«Пародонтит— воспаление тканей пародонта, характеризующееся прогрессирующей деструкцией периодонта, кости альвеолярного отростка и альвеолярной части челюстей». [13, стр.6]

Выделяют ряд местных и общих факторов риска, способствующих возникновению пародонтита.

Местные факторы:

* Факторы, вызывающие перегрузку пародонта: патология прикуса, супраконтакты, парафункциональные привычки, дефекты протезирования и пломбирования;
* Факторы, вызывающие ишемию тканей пародонта – короткие уздечки языка и губ, нарушение прикрепления уздечек языка, губ и тяжей, мелкое преддверие рта;
* Неудовлетворительная гигиена полости рта;
* Врожденные особенности строения пародонта: тонкая, малокератинизированная десна, недостаточная толщина альвеолярной кости, выпуклый контур зубной дуги, часто сочетающийся с выпуклостью корней.

Из общих факторов имеют значения соматические патологии, хронические эмоциональные стрессы, эндокринные заболевания, язвенная болезнь ЖКТ, системный остеопороз и др. [4; 14].

В настоящее время ведущую роль в возникновении воспалительных изменений в пародонте отводят повреждающему действию зубной бляшки, которая представляет собой упорядоченное бактериальное сообщество – биопленку. В процессе ее образования были изучены следующие стадии:

1. *Формирование пелликулы*, которая образуется из компонентов слюны, десневой жидкости, пищевых остатков. Механизм образования обеспечивается электростатическими силами, обеспечивающими связь между гидроксиапатитами эмали и с положительно заряженными катионами десневой жидкости и слюны.
2. *Первичное микробное обсеменение*. «Благодаря наличию специальных адгезивных молекул такие микроорганизмы, как *Streptococcus sanguis* и *Actinomyces viscosus* избирательно прикрепляются к схожим участкам адгезии на пелликуле. В качестве адгезивных очагов могут выступать молекулы декстрана, как у *Str. sanguis*, в случае *Act. viscosus* – белковые фимбрии, прикрепляющиеся к белкам пролина на пелликуле» [15, стр. 17]. Как следствие развиваются благоприятные условия для размножения облигатных анаэробов.
3. *Вторичная микробная колонизация*. *Созревание зубной биопленки.* На данной стадии наблюдается переход к грамотрицательным бактериям. Появляются следующие пародонтопатогены:

* *Prevotella intermedia*
* *Fusobacterium nucleatum*
* *Porphyromonas gingivalis*
* *Capnocytophaga saprophytum*

Полностью сформировавшаяся бляшка образуется спустя 6-9 дней. Самыми последними биопленку заселяют нитевидные и веретенообразные формы, способные выделять экзополисахариды, которые образуют вязкую субстанцию. Таким образом, все микроколонии бактерий становятся обособленными от внешней среды, что может затруднить достижение высокой эффективности лечения. [16]

Несмотря на общие закономерности возникновения биопленки, зубные бляшки носят индивидуальный характер и зависят от конкретных условий. Благодаря микробиологическим исследованиям были выяснены преимущественные микробные представители и их сочетания при разных формах поражения пародонта [16; 17; 15 стр. 17].

* «Красный комплекс». Представители – *Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, Tannerella forsythia*. Данный комплекс обладает максимальными патогенными свойствами и агрессивно воздействует на ткани пародонта, что приводит к кровоточивости десен и быстрому течению деструктивных процессов в пародонте
* «Зеленый комплекс». Представителями являются *Eikenella corrodens, Capnocytophaga spp., Actinobacillus actinomycetemcomitans*, где фактором вирулентности является лейкотоксин, вызывающий лизис нейтрофилов. Бактерии данного комплекса могут являться причиной не только заболеваний пародонта, но и других поражений слизистой оболочки полости рта и твердых тканей зубов.
* «Желтый комплекс» - *Streptococcus Mitis, Streptococcus oralis, Streptococcus sanguis, Streptococcus gordonii, Streptococcus intermedius*.
* «Оранжевый комплекс». Наблюдаются *Prevotella intermedia, Prevotella nigrescens, Campylobacter spp., Peptostreptococcus micros. Prevotella intermedia* вырабатывает фосфолипазу А, нарушающую целостность мембран эпителиальных клеток. Активно продуцирует гидролитические протеазы, способные расщеплять белки тканей пародонта.
* «Пурпурный комплекс» - *Veilonella parvula, Actinomyces odontolyticus»*.

Как следствие, между микробными ассоциациями возникают стойкие взаимовыгодные отношения. Как пример, продукты, являющиеся метаболитами одних микроорганизмов, могут служить источником питания для других.

Таким образом, микроорганизмы зубной бляшки производят активное выделение различных ферментов, таких как гиалуронидаза, хондроитинсульфатаза, протеазы, глюкуронидаза, коллагеназа и другие. Несомненно, они обладают выраженной протеолитической активностью [16]. Данные ферменты способствуют развитию микроциркуляторных нарушений в пародонте, запускают ряд реакций воспаления, вызывают деполимеризацию гликозаминогликанов, белков тканей пародонта, а в первую очередь коллагена.

Со временем в зубной бляшке происходит повышение концентрации неорганических веществ, и она становится матрицей для образования зубного камня [15; 16]. Фосфат кальция, преобладающий в бляшке, импрегнирует ее коллоидную основу, изменяя соотношение между гликозаминогликанами, микроорганизмами, слущенным эпителием, лейкоцитами и прочее [16]. Помимо протеолитической активности за счет пародонтопатогенной микрофлоры минерализованные зубные отложения обуславливают выраженное механическое повреждающее действие на ткани пародонта.

Выделяют следующие основные влияния микробного фактора на развитие воспалительных заболеваний пародонта [3; 14; 15; 18]:

1. Активное действие протеолитических ферментов на эпителий прикрепления, приводя к повышению его проницаемости;
2. Воздействие ферментов на органическую субстанцию эпителиального прикрепления, что приводит к изменению коллоидного состояния и способствует нарушению связи эпителия с эмалью зуба;
3. образованные анаэробными бактериями эндотоксины повреждают клетки соединительнотканного образования и основное вещество, активируют систему комплемента, кининов и других медиаторов воспаления, вызывая ответные иммунные реакции – гуморальные и клеточные. В результате отмечается воспаление мягких тканей с последующей деструкцией костной ткани альвеолы;
4. секретируемые в процессе воспаления биологически активные вещества воздействуют на клеточные мембраны сосудов – прекапилляров и капилляров, способствуют выходу форменных элементов крови, активизации тучных и плазматических клеток, лимфоцитов;
5. патогенная микрофлора, обладая антигенными свойствами, оказывает сенсибилизирующее действие, приводит к усилению альтерации. Также может обуславливать выработку аутоантигенов, способные вызывать лизис круговой связки зуба, костной ткани.

Следует отметить, что вышеизложенные патологические процессы, в том числе характерны и для хронического генерализованного пародонтита, изучение лечения которого является задачей данной работы. Таким образом, можно подытожить основные этапы патогенеза хронического генерализованного пародонтита:

1. Повреждение клеток и межклеточного матрикса, коллагеновых структур вследствие выделения лизосомальных ферментов лейкоцитами;
2. Выделение плазменных и клеточных медиаторов воспаления;
3. Нарушение микроциркуляторного русла и вследствие этого повышение сосудисто-тканевой проницаемости;
4. Нарушение трофики тканей пародонта приводит к гипоксии тканей и изменению энергетических процессов, обеспечивающих жизнеспособность клеток [4; 14; 19].

В результате разрушения зубодесневого прикрепления, а также воспалительной резорбции костной ткани альвеолы на фоне активации остеокластов и угнетения остеобластов формируется пародонтальный карман и возникает полное разрушение опорно-удерживающего аппарата зуба, что в итоге приводит к постепенной потере зубов.

### **1.3 Влияние сахарного диабета II типа на состояние тканей пародонта.**

Сахарный диабет, являясь распространенным заболеванием, в 2-3 раза повышает риск возникновения пародонтита, а также в значительной степени оказывает влияние на патогенетические аспекты развития воспалительных процессов пародонта.

Известно, что негативное влияние диабета обусловлено повреждающим действием гипергликемии и связано с нарушением гемодинамики и развитием микроангиопатий, иммунологическими и нейрорегуляторными расстройствами в организме, а также хроническим повреждением тканей конечными продуктами усиленного гликозилирования [15].

Развитие воспалительного процесса в пародонте, его генерализация и хронизация также определяются видовым и количественным составом микрофлоры полости рта, а также состоянием иммунной системы, измененной диабетическими патогенетическими факторами [19; 20; 21; 22].

Следовательно, основными механизмами повреждения тканей пародонта при диабете являются:

1. Васкулярные расстройства – ангиопатии за счет огрубления базальной мембраны в стенках капилляров и повреждения эндотелия;
2. Дисфункция нейтрофилов за счет нарушения фагоцитоза, хемотаксиса и механизма ликвидации микроорганизмов, что дает картину вялотекущего процесса, склонного к хронизации;
3. Нарушение клеточной пролиферации, синтеза коллагена, и способности к его регенерации;
4. гликация пародонтальных тканей с образованием веществ AGEs (Advanced Glycation Endproducts), стимулирующие выработку моноцитов, которые способны вырабатывать большие количества TNFα;
5. повышение коллагенолитической активности;
6. повышение остеолитической активности.

Ведущим фактором принято считать ангиопатию, пусковым моментом которой является нарушение углеводного обмена и гликозамингликанов, определяющих функциональную и структурную целостность базальной мембраны сосудов. В основе микроангиопатии лежат явления плазморрагии. Они сводятся к первичному поражению базальной мембраны микроциркуляторного русла, а затем вызывают склероз и гиалиноз стенок сосудов. Необходимо отметить, что воспалительный фактор отсутствует, что говорит о первичном характере микроциркуляторных расстройств.

«Изменения сосудов при сахарном диабете носят название «диабетической пародонтопатией» [15, стр.35]. Диабетический пародонтит имеет свою собственную морфогистологическую специфику, в значительной мере отличающуюся от других воспалений пародонта. Суть отличий – в нарушении проницаемости эндотелия микрососудов. Эндотелий капилляра буквально «фенестрирован» и перестает быть барьером для макромолекул и микроорганизмов. Бактериемия при пародонтите может возникать уже при обычной чистке зубов и жевании. Наблюдаемые макро-, микроангиопатии, приводят к развитию парестезии, ксеротомии, трофическим расстройствам слизистой оболочки, снижению барьерных функциий эпителия [23; 24]. Диабетические гистоморфологические изменения в капиллярах пародонта схожи с диабетическими изменениями в сетчатке глаза и клубочках почек.

При сахарном диабете происходят существенные изменения свойств слюны: качественно изменяется рост микрокристаллов, уменьшается её минерализующий потенциал [25; 26] и фагоцитарная активность нейтрофилов ротовой жидкости [27], снижается скорость слюноотделения и PH ротовой жидкости. Данные изменения способствуют повышению содержания в ней глюкозы, снижению буферных свойств слюны и как в следствие - высокой скорости образования и минерализации зубных отложений [28].

Несомненно, следует отдельно отметить значение имунопатологического аспекта. «Вырабатываемые при гликации тканей вещества AGEs приводят к увеличению структурирования коллагена и производству свободных радикалов» [29]. Измененные волокна коллагена накапливаются в тканях, что приводит к утолщению базальной мембраны. Это способствует ослаблению диффузии кислорода, выведению продуктов метаболизма, миграции лейкоцитов и диффузии иммунных факторов. Происходит увеличение местной выработки цитокинов моноцитами, которые повышают воспалительный ответ, приводя к повреждению соединительной ткани, резорбции кости и медленному заживлению ран.

«При попадании провоспалительных медиаторов в ток крови, наблюдается системное повышение уровней интерлейкинов (IL-1β N и NIL-6), TNFα и простагландинов, приводящее к инсулинрезистентности и, в результате, сложности достижения контроля гликемии» [29]. Возникает порочный круг, «звенья» которого усложняют контроль диабета и стимулируют дальнейшее развитие пародонтита.

Исходя из вышеизложенного, можно заметить, что сахарный диабет влияет на интенсивность воспалительных и деструктивных процессов в пародонте, усугубляя их, а заболевание пародонта в свою очередь влияет на общий диабетический статус пациента. Следовательно, своевременная коррекция воспалительного звена патогенеза способствует улучшению качества жизни и общего состояния пациента.

На фоне «диабетической пародонтопатии» закономерным является также изменение микробиоценоза полости рта, в результате чего наблюдаются дисмикробиозы и существенные изменения в составе нормальной микрофлоры.

По данным исследования О. В. Бондаренко (2004), у пациентов с сахарным диабетом преобладающей в численном и видовом отношении отмечалась грамположительная факультативно-анаэробная флора, при этом наблюдалось уменьшение распространенности негемолитического стрептококка и повышение, по сравнению со здоровыми лицами, высеваемости эпидермального стафилококка, а также встречаемости патогенной флоры (гемолитического стрептококка и золотистого стафилококка). При длительности диабета от 5 до 10 лет было выявлено ухудшение микробиоценоза СОПР за счет увеличения распространенности патогенной и условно-патогенной флоры, однако, при течении более 10 лет - параметры имели тенденцию к стабилизации.

Для микрофлоры пародонтальных карманов у больных сахарным диабетом характерно увеличение частоты и количества пародонтопатогенных и агрессивных видов микроорганизмов: *S. intermedius, Actinomyces israelii, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium spp., Prevotella intermedia,* наличие бактерий-трансбионтов, представленных *Enterobacterium spp., Klebsiella spp., St. aureus,* грибов рода *Candida.*

### **1.4 Препараты местного действия, применяемые при воспалительных процессах пародонта.**

Исходя из патогенетической сущности воспалительных заболеваний пародонта у каждого больного лечение должно носить комплексный характер. В этот комплекс входят местные и общие терапевтические приёмы с применением лекарственных средств, а также хирургическое, ортопедическое и при необходимости ортодонтическое лечение. Кроме того, лечение следует вести с учётом состояния естественных защитных механизмов в расчёте на укрепление общего состояния организма и повышения его иммунологической реактивности.

Однако в качестве базовой терапии выступает местное медикаментозное лечение. При данном терапевтическом методе применяются многочисленные лекарственные препараты или их сочетания, используемые в различных формах: полоскания, спреи, мази, гели, пасты, эмульсии, пленки и др. Однако, применение средств виде полосканий и аппликаций оказывает только краткосрочный лечебный эффект. «Наиболее перспективными и актуальными являются препараты пролонгированного действия, поскольку они способны обеспечивать необходимую терапевтическую концентрацию действующего вещества в долгосрочном периоде непосредственно в очаге поражения» [18]. Данные системы локальной доставки состоят из биосовместимой матрицы и лекарственного препарата. При этом на матрицах могут быть абсорбированы препараты не только для этиотропной терапии, но и для патогенетического - антиоксиданты, нестероидные противовоспалительные средства, глюкокортикоиды, средства, направленные на регенерацию и симптоматическое лечение.

Средства локальной доставки можно разделить на две группы: небиорезорбируемые и биорезорбируемые системы. Преимуществом систем первого типа является контролируемое удаление препарата. Плюсом биорезорбируемых систем является отсутствие необходимости дополнительного посещения для извлечения системы.

В качестве матриц могут выступать волокна, пленки, гели, микрочастицы, криогели, наночастицы [18; 30].

1. Микрочастицы

Основу микрочастиц составляют биорезорбируемые полиальфа-гидроксикислоты, такие как полилактид и полилактид-ко-гликолид. Действующим веществом выступает миноциклина гидрохлорид, содержащийся в виде микросфер и используемый для элиминации Porphyromonas gingivalis.

Примером является препарат «Arestin», апплицируемый после скейлинга и плэнинга поверхности корня в пародонтальный карман и выделяющий антибиотик на протяжение 14 дней, после чего полностью резорбируется [10].

1. Гели

Наиболее популярной комбинацией препаратов в составе гелей является хлоргексидин с метронидазолом. Метронидазол обладает антибактериальным действием против анаэробных бактерий, вызывающих заболевания пародонта: *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Fusobacterium fusiformis, Wolinella recta, Eikenella corrodens, Borrelia vincenti, Bacteroides melaninogenicus, Selenomonas spp.* Хлоргексидина биглюконат является эффективным в отношении грамположительных и грамотрицательных аэробных и анаэробных бактерий (*Treponema spp., Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas spp., Chlamydia spp., Ureaplasma spp., Bacteroides fragilis*).

Представителями данной группы являются гель «Метрогил Дента», адгезивный бальзам «Асепта», фиксирующийся на деснах за счет входящих в его состав пектина и карбоксиметилцеллюлозы, и метронидазол-гель - «Elyzol», в котором в качестве несущей субстанции выступает сезамовое масло. При нагревании до температуры тела его вязкость падает, и он беспрепятственно затекает в пародонтальный карман (ПК). Контакт с десневой жидкостью делает его клейким, что обеспечивает связывание геля с поверхностью зуба и мягкими тканями.

Примером геля, где в качестве антибиотика выступает доксициклин, является полимер «Atridox». Выпускается в двух шприцах, в одном из которых матрица, в другом — 8,5% доксициклин. Препарат предварительно смешивается, вносится в ПК с помощью шприца, после чего затвердевает в присутствии десневой жидкости и слюны. Оказывает терапевтическое воздействие в течение 7 дней, по истечении которых полностью рассасывается.

Помимо антибактериальных препаратов в состав гелей вводятся препараты, способствующие регенерации тканей пародонта.

«Примером может служить «Гиалудент», который содержит гиалуронат натрия в сочетании с хлоргексидином, с хлоргексидином и метронидазолом, с доксициклином и с витаминами» [32].

Гиалуроновая кислота способна связывать большое количество антибактериальных препаратов и пролонгированно высвобождать их на месте введения. Будучи основным компонентом межклеточного матрикса, гиалуроновая кислота обладает слудующими свойствами:

* трофической - облегчает поступление веществ к клеткам и удаление продуктов метаболизма;
* защитной - модулирует активность фагоцитов, иммунокомпетентных клеток;
* пластической - стимулирует миграцию фибробластов и клеточную пролиферацию.

1. Волокна

«Они вводятся в пародонтальный карман, подобно ретракционной нити, по окружности шейки зуба. Примерами данной системы являются волокна с тетрациклином – «Actisite» [32]. Состоит из 23-сантиметрового монофиламента 0,5 мм в диаметре, содержащего 12,7 мг равномерно распределенного гидрохлорида тетрациклина. Полностью не резорбируется, требует удаления чрез 10 дней.

1. Пленки

Это матрицы систем локальной доставки, в которых лекарственные препараты распределены по всей поверхности полимера и высвобождаются посредством диффузии препарата или растворения матрицы.

«Диплен Дента» - пленка, состоящая из 2 слоев: гидрофильного и гидрофобного. Внутренний (гидрофильный, адгезивный) слой представлен терапевтическими средствами, а также компонентами, стабилизирующими и пролонгирующими их действие, контролирующими транспорт медикаментозных препаратов в очаг поражения и поддерживающими оптимальный pH в зоне адгезии. Внешний (гидрофобный) слой выполняет защитную и изолирующую функцию, предохраняя очаг поражения от воздействия факторов внешней среды» [5]. В качестве терапевтических веществ используют различные антибактериальные, противопротозойные, антисептические, противовоспалительные, кератопластические, обезболивающие фармакологические препараты, в связи с чем на рынке представлен широкий спектр пленок для всех сфер стоматологической практики.

«Полимерная пленка обладает улучшенной адгезией к слизистой оболочке, благодаря небольшой толщине и пластичности, ее удобно моделировать в пародонтальный карман с учетом топографии очага поражения» [5; 33; 34]. Прозрачность пленки позволяет осуществлять визуальный контроль состояния послеоперационной раны без перевязок, а полупроницаемость и способность к саморассасыванию в течение 24 часов обеспечивают возможность для оттока экссудата в первой фазе заживления.

Пародонтологические пластины «Farmadont» в отличие от полимерной пленки Диплен-Дента содержат коллаген с различными растительными добавками, способствующие антисептическому, гемостатическому и местноанестезирующему действию.

«Еще одним препаратом, представленным в виде коллагеновых пластин, является Дигестол. Наиболее существенным его отличием от всех перечисленных препаратов является наличие в его составе ферментирующего агента — дигестазы. Данный фермент участвует в деконтаминации раны от детрита, а также оказывает бактерицидное действие, усиливает микроциркуляцию и обменные процессы в зоне очага поражения и постепенно высвобождается по мере пропитывания коллагеновой пластины экссудатом» [5].

1. Биоактивный лекарственный криогель (БЛК)

«Криогель является разработкой кафедры терапевтической стоматологии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Высокопористая матрица данного препарата представляет собой криоструктурированный крахмал. Помимо пролонгированного действия лекарственных средств, матрица обуславливает гемостатические свойства препарата и создает дренирующий эффект за счет пористой структуры, хлорида натрия и полифепама. При биодекструкции крахмала высвобождается глюкоза, которая восполняет энергозатраты клеток на эпителизацию и регенерацию тканей пародонта. Препарат действует на все звенья патогенеза в качестве противомикробного агента на матрице иммобилизирован диоксидин, в качестве сорбента — полифепан, способствующий сорбции токсинов, микроорганизмов, уменьшению отека, удалению некротических масс, в качестве антиоксиданта и препарата, способствующего регенерации-L-токоферолацетат, который в свою очередь, участвует в перекисном окислении липидов, уменьшает проницаемость и ломкость сосудов. Действие БЛК длится 1–2 дня, после чего препарат полностью рассасывается» [32].

1. Наночастицы

Являются новыми препаратами пролонгированного действия. Эти системы обладают рядом преимуществ в сравнении с микросферами, микрочастицами: они выкодисперсны в водной среде, обладают контролируемой скоростью высвобождения и повышенной стабильностью. Наночастицы, благодаря своим малым размерам, проникают в области, недоступные для других СЛД.

Выпускаемый в США Periostat является капсулой, содержащей 20 мг доксициклина. Однако доза является ниже антибактериальной. «По последним исследованиям препараты ряда тетрациклина в малых концентрациях, в 5 раз ниже антибактериальных, способны ингибировать протеиназы, которые вызывают деструктивные процессы в костной ткани при ВЗП» [32].

1. Чипы

* «Periochip» — мембрана, состоящая из 2.5 мг хлоргексидина глюконата, желатина, глицерина и очищенной воды. После введения в ПК Periochip выделяет хлоргексидин на протяжение 7–10 дней, после чего рассасывается. В течении первых 24 часов происходит выделение 40% ХГ, а затем — равномерно в течение 7–10 дней.
* «M-Сhip» — нанотехнологическая матрица в виде эластичных прозрачных пластинок светло-желтого цвета.

«Имеет 3 формы: овальную, треугольную и прямоугольную. Препарат содержит бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид моногидрат (мирамистин), масло чайного дерева, очищенную воду. Вспомогательное вещество — медицинский очищенный желатин» [30].

«M-chip» обладает свойствами катионного детергента, гидрофобно взаимодействует с липидным бислоем мембран бактерий и других микроорганизмов, увеличивает проницаемость их клеточных стенок и цитоплазматических мембран и индуцирует цитолиз. Активен в отношении грамположительных микроорганизмов (в том числе *Staphylococcus spp., Streptococcus spp., Bacillus anthracoides, Bacillus subtilis)*; грамотрицательных микроорганизмов (в том числе *Neisseria spp., Escherichia coli, Shigella spp., Salmonella spp., Vibrio spp., Treponema pallidum, Corynebacterium diphtheriae*); ряда внутриклеточных патогенов (в том числе *Chlamydia trachomatis, Chlamydia pneumoniae*); вирусов (простого герпеса, гриппа, ВИЧ), некоторых грибов (*Candida albicans, Candida tropicalis, Trichophyton rubrum*).

Его иммуноадъювантное действие выражено в функциональной активности иммунных клеток, стимулировании местного неспецифического иммунного ответа, ускорении процесса заживления ран, снижении резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [33; 34].

Нанотехнологическая матрица обладает свойством селективной доставки лекарственных средств в зону патологии. Желатин обусловливает кровоостанавливающий эффект, а также является донором пластического материала для регенерации пораженных тканей. Пролонгирование лечебного воздействия обеспечивается вязкой консистенцией желатина.

Таким образом, в ходе обзора литературы были выделены основные препараты пролонгированного действия. В виду своей относительной новизны, но широкого распространения в стоматологической практике изучение их эффективности имеет широкую практическую значимость в лечении хронического генерализованного пародонтита.

Однако, благодаря тому, что препарат «M-Chip» обладает высоким профилем клинической безопасности, в том числе отсутствием резорбтивного действия, способностью длительное время обеспечивать высокую локальную концентрацию мирамистина, делает его возможным препаратом выбора при лечении хронического генерализованного пародонтита у пациентов с отягощенным анамнезом, в частности сахарным диабетом II типа.

Следовательно, клинико-микробиологическая и иммунологическая оценка применения препарата «M-Chip» у пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом позволит определить наличие его эффективности, а также сформулировать дальнейшие практические рекомендации для врачей-стоматологов при лечении пациентов с соответствующим анамнезом.

## **Глава 2. Материалы и методы исследования**

### **2.1 Клиническая характеристика пациентов**

Согласно поставленным задачам было проведено обследование 20 пациентов в возрасте от 48 до 67 лет (средний возраст 56.4 ± 2,11) с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести.

Критерии включения пациентов в исследование: установленный диагноз хронический генерализованный пародонтит; установленный диагноз сахарный диабет 2 типа; информированное добровольное согласие больного.

Критерии исключения пациентов из исследования: наличие вредных привычек; наличие ортодонтических аппаратов; тяжелая сопутствующая патология внутренних органов в субкомпенсированной или декомпенсированной форме, опухоли любой локализации; ВИЧ-инфекция, активный туберкулез; отказ больного от обследования.

Всем пациентам было проведено обследование, которое включало в себя сбор жалоб, анамнеза настоящего заболевания и жизни пациента, оценку стоматологического статуса, а также занесение полученных данных в карту обследования стоматологического больного.

Пациенты были разделены на две группы наблюдения.

В основную группу вошли 10 пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести, в комплекс лечебных мероприятий которых включено местное применение препарата пролонгированного действия «M-Chip».

Контрольную группу составили 10 пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести, в комплекс лечебных мероприятий которых включено использование 0,01% раствора «Мирамистина» для ирригации пародонтальных карманов.

Лечение пациентов проводили по единой схеме. Всех пациентов обучали рациональной гигиене полости рта, правильному выбору предметов и средств ухода за зубами с последующим контролем. После коррекции индивидуальной гигиены полости рта проводили профессиональную гигиену ПР с использованием ручных инструментов (кюреты, скейлеры) и ультразвукового скейлера с последующей полировкой поверхности зубов вращающимися инструментами. По показаниям выполняли избирательное пришлифовывание зубов, коррекцию нависающих краев пломб, их полирование.

Пациентам основной группы в пародонтальные карманы вводили «M-Chip». Процедуру введения в пародонтальные карманы препарата пролонгированного действия, содержащего мирамистин, повторяли трижды с интервалом 4-5 дней.

Для местного консервативного лечения применяли прямоугольную или треугольную форму «M-Chip».

Последовательность действий при введении в пародонтальный карман «M-Chip»:

1.Промыть и высушить область воздействия.

2.Подождать 20-30 сек. выделения ретикулярной жидкости.

3.Ввести или приклеить наноматрицу «M-Chip» и легко прижать до полной адгезии.

4.Не принимать пищу и не полоскать полость рта в течение 2-х часов.

Пациентам контрольной группы проводили ирригацию пародонтальных карманов из шприца 0,01% раствором «Мирамистина». Данную процедуру повторяли трижды с интервалом 4-5 дней.

Эффективность лечебных мероприятий оценивали в процессе динамического наблюдения в сроки: до профессиональной гигиены полости рта, через 2 недели после окончания курса местного лечения препаратами «M-Chip» и 0,01% раствором «Мирамистина».

### **2.2 Оценка стоматологического статуса**

Клиническое обследование пациентов проводилось по стандартной методике, которая состояла из сбора анамнеза жизни и заболевания, внешнего осмотра и осмотра полости рта. В обследовании использовались как основные, так и дополнительные методы исследования.

Методика обследования пациента:

* Сбор жалоб;
* Сбор анамнеза жизни (возраст; пол; наличие вредных привычек; наличие аллергии; перенесенные и сопутствующие заболевания; гигиенические навыки пациента);
* Сбор анамнеза заболевания (предполагаемая причина возникновения; давность течения заболевания; наличие и эффективность проводимого ранее лечения);
* Клинический осмотр, включающий внешний осмотр, а также полости рта:

1. исследование зубной формулы, состояние прикуса, уздечек верхней и нижней губ, тяжей слизистой оболочки рта, цвета слизистой оболочки десны;
2. определение наличия мягкого зубного налета, наддесневых и поддесневых отложений; цвет и состояние десны;
3. оценка рецессии десны;
4. наличие пародонтальных карманов;
5. наличие и характер экссудата из пародонтальных карманов;
6. наличие и интенсивность кариеса;
7. оценка подвижности зубов по степени их смещения по шкале Miller в модификации Fleszar (1980):

1 степень - зуб смещается в вестибуло-оральном направлении, но смещение не превышает 1мм;

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

3 степень - подвижность резко выражена, зуб подвижен в том числе и вертикальном направлении, функция нарушена;

1. 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 хронического генерализованного пародонтита потеря клинического прикрепления составляет 1-2 мм, при средней – 3-4 мм, при тяжелой – 5 мм и более;

* Определение стоматологических индексов:

1. Определение интенсивности кариеса:

Индекс КПУ зубов - сумма клинических признаков кариозного поражения, рассчитанная индивидуально для одного пациента или группы обследованных, где К - количество кариозных(невылеченных) зубов, П - количество пломбированных(леченных) зубов, У - количество удаленных зубов/количество корней зубов, подлежащих удалению.

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

Применяется 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 — определяется налет в придесневой области только зондом, к кончику прилипает мягкое вещество, визуально налет не определяется;

2 балла — налет виден невооруженным глазом в десневом желобке и в придесневой области коронки зуба;

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

Интенсивность налета =

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

Проводится исследование при помощи зонда, производя движение от режущего края к десне следующих зубов:

* 1.6, 2.6 щечная поверхность;
* и 4.6 язычная поверхность;
* 1.1, 3.1 губная поверхность.

Критерии оценки:

0 – нет налета и зубного камня;

1 - мягкий зубной налет покрывает до 1/3 площади коронки и/или наличие плотного пигментного налета, наддесневoй зубной камень выявляется не более, чем на 1/3 площади коронки;

2 - налет покрывает от 1/3 до 2/3 площади коронки, наддесневoй зубной камень занимает от 1/3 до 2/3 поверхности коронки и/или наличие отдельных частиц пoддесневого зубного камня;

3 - мягкий налет покрывает от 2/3 площади коронки, наддесневoй зубной камень более 2/3 коронки и/или пoддесневой зубной камень охватывает всю шейку зуба циркулярнo.

Интенсивность налета = +

Интерпретация результатов:

0–0,6 — низкий индекс гигиены, хорошая гигиена ПР;

0,7–1,6 — средний индекс гигиены, удовлетворительная гигиена ПР;

1,7–2,5 — высокий индекс гигиены, неудовлетворительная гигиена ПР;

≥ 2,6 — очень высокий инёдекс гигиены, плохая гигиена ПР.

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

Оценка начальных воспалительных изменений тканей пародонта определяется по следующим критериям:

0 — отсутствие воспаления;

1 — воспаление только десневого сосочка (Р);

2 — воспаление маргинальной десны (М);

3 — воспаление альвеолярной десны (А).

Интенсивность воспалительных изменений = \* 100%

Интерпретация результатов:

30% и менее - легкая степень тяжести гингивита;

31—60 % - средняя степень тяжести гингивита;

61% и выше - тяжелая степень тяжести гингивита.

1. Оценка кровоточивости при зондировании (ВОР) (Аinаmo, Вау, 1975)

Для определения индекса необходимо обследовать десну в области поверхностей зубов на наличие или отсутствие кровоточивости. Степень выраженности гингивита и кровоточивости выражается в %.

ВОР = \*100%

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

Для определения данного индекса используется пародонтальный зонд специальной конструкции, имеющий на конце шарик диаметром 0.5мм 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.

Критерии оценки:

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**

Проводилась оценка компьютерных томограмм пациентов, по результатам которой определяли наличие или отсутствие костных карманов, деструкции костной ткани альвеолярного отростка, величина которой может быть в зависимости от степени тяжести - 1/3, 1/2 и более 1/2 длины корня, а также целостность компактной пластинки костной ткани.

### **2.4 Микробиологические методы исследования**

**2.4.1 Забор материала**

Для проведения микробиологического исследования производился забор биологического материала из пародонтальных карманов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести с помощью стерильных бумажных эндодонтических абсорбентов Absorbent Paper Points, фирмы Euronda размером №25, которые были введены в пародонтальные карманы на 15 секунд с обеспечением минимального контакта с атмосферным воздухом. Затем данные абсорбенты немедленно помещались в стерильную герметичную пробирку типа Eppendorf, которые помещались в специальное устройство для охлаждения для последующей транспортировки в лабораторию.

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

Реагент (150 мкл) добавляли в пробирку с исследуемым материалом (на 8-ми бумажных абсорберах), который затем в течение 10 секунд тщательно перемешивался на центрифуге-встряхивателе (Vortex, Biosan). Абсорберы извлекали из пробирки, отжимая впитанное содержимое крышкой пробирки, затем пробирки помещали в твердотельный термостат и инкубировали (t=+98°С; 20 минут). После этого производили центрифугирование при 13000 об/мин при комнатной температуре (+18…+25С) в течение 15 секунд для получения надосадка. Полученный образец использовали при постановке реакции амплификации.

* + 1. **Конструирование oлигонуклеотидных праймерoв**

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

В работе применялись следующие олигонуклеотидные праймеры: *P. gingivalis, P. intermedia, T. forsythia,* T. denticola*, C. albicans.*

**Таблица 1**

Олигонуклеoтидные праймеры:

*P. gingivalis, P. intermedia, T. forsythia,* T. denticola, C. albicans

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Название** | **5’→3’** | **Тотжига** | **Размер фрагмента, п.н.** |
| ***P. gingivalis*** | | | | |
| 1 | Gin1 | GTATATGCTCGACGAGGTGGAA | 57,0 | 334 |
| 2 | Gin2 | ATTGTCCAGGGTAACTTCTTCG |  |  |
| ***P. intermedia*** | | | | |
| 3 | Int 1 | AATACAGCCTTCGAGGGTTT | 55,0 | 335 |
| 4 | Int 2 | TTCGGTCAAGACAGTAGGGA |  |  |
| ***T. forsythia*** | | | | |
| 5 | For1 | CGAGGGTTCAATACGCTGTT | 54,0 | 572 |
| 6 | For2 | ATAAAAATCGCATCGCAAGG |  |  |
| **T. denticola** | | | | |
| 7 | Den1 | TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT | 59,0 | 311 |
| 8 | Den2 | TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA |  |  |
| ***C. albicans*** | | | | |
| 9 | Cal1 | TTCATCAACTTGTCACACCAGA | 55,0 | 273 |
| 10 | Cal2 | ATCCCGCCTTACCACTACCG |  |  |

**2.4.4 Полимеразная цепная реакция**

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – реакция амплификации исследуемого участка ДНК, которая заключаетсяя в получении большого количества копий ДНК путем многократного циклического реплицирования и денатурации нитей ДНК. Это позволяет выявить наличие в образце конкретный участок ДНК, соответствующий заданным условиям.

Смесь для амплификации состояла из: 5 мкл исследуемой ДНК, 10 мкмолей праймеров, 0,2 мМ каждого из 4 дезоксирибонуклеoтидтрифосфатов, буферного раствора с добавлением магния, 0,4 мкл термостабильной ДНК полимеразы и воды, необходимой для доведения объёма до 25 мкл.

На поверхность смеси наносили 30 мкл минерального масла. Пробирки помещали в амплификатор (Терцик, Россия). Смесь инкубировали при t = 94оС в течение 3 минут. Прибор программировали на цикл денатурации t = 94oС на 15 секунд, цикл отжига праймеров на 15 секунд (температура отжига праймеров отличалась для разных праймеров и указана в таблице 2), 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.

**2.4.5 Электрофорез ДНК**

Электрофорез ДНК проводили в 1,0% агарозном геле в горизонтальном аппарате «Hoefer HE 33» (Pharmacia, Швеция) с использованием ТАЕ буфера. В гель был добавлен раствор бромистого этидия (0,5 мкг/мл) для визуализации ДНК в ультрафиолетовых лучах. В смесь, полученную после амплификации, добавлялся краситель (Thermo Scientific, Германия) для нанесения образцов в лунки агарозного геля. Время электрофореза – 30 мин, напряжение - 70В.

Визуализацию полученных результатов проводили с использованием системы видеoзахвата «VersaDoc MP 4000» (BioRad), где производилась фотофиксация в ультрафиолетовых лучах с последующей обработкой снимка в компьютерной программе «Quantity One» (США).

Молекулярные массы исследуемых фрагментов ДНК рассчитывали с использованием ДНК-маркера «100 bp Plus DNA ladder».

### **Иммунологические методы исследования**

Для осуществления исследования были взяты пробы смешанной слюны у пациентов обеих групп до и после проведенного лечения. Впоследствии была осуществлена постановка иммуноферментного анализа с количественным определением содержания общего IgA в смешанной слюне пациентов. Полученные данные были использованы для оценки влияния проведенного лечения на уровень местного иммунитета полости рта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести на фоне сахарного диабета II типа.

Во время проведения иммуноферментного анализа были использованы следующие буферы:

1. Для нанесения антигена - PBS (забуференный физиологический раствор, рН=7,4)
2. Для субстрата - Фосфатно-цитратный буфер, 0.1 М, рН=5.0
3. Промывочный буфер - PBS + Tween 20 (0,05%)
4. Блокирующий буфер - PBS + Tween 20 (0,05%)
5. Разбавитель - PBS + Tween 20 (0,05%)

Исследование проводилось в 96-луночных планшетах для иммунологических реакций высокой сорбции. (Nunk, Дания).

Ход эксперимента:

1 день:

Для сенсибилизации во все лунки планшетов вносили рекомбинантный полипептид Р6, содержащий IgA связывающий участок (2мкг/мл) по 100мкл. Адсорбция антигена протекала при температуре 4ºС в течение ночи.

2 день:

1. Произведено удаление из лунок содержимого. Далее проводилось промывание двукратно промывочным буфером по 200 мкл. Для блокировки нанесли по 150мкл блокирующего буфера. Инкубация 30 минут при 37 ºС.

2. Удаление и промывание трехкратно согласно выше описанной методике в пункте 1.

Далее в лунки были добавлены пробы слюны согласно плану постановки опыта по 100 мкл, за исключением контрольных лунок (контроль фона). Разводились пробы на разбавителе. Инкубация 1 час при 37 ºС.

3. Удаление и промывание трехкратно согласно выше описанной методике в пункте 1.

4. Нанесение конъюгата (анти IgA человека-пероксидаза) по 100 мкл во все лунки, за исключением контрольных. Разведение осуществлялось на разбавителе. Инкубация 1 час при 37 ºС.

5.Удаление и промывание трехкратно промывочным буфером и один раз - только забуференным физиологическим раствором. (PBS)

6. Добавление субстрата по 100 мкл во все лунки планшета (TMB (3,3’,5,5’-Tetramethylbenzidine dihydrochloride Monohydrate), Fluka) на фосфатно-цитратном буфере (0,1 М, рН=5,0), активирование 2 мкл 33% перекиси водорода. Инкубация 30 минут при комнатной температуре в темноте.

7. Для остановки реакции добавляли по 30 мкл 50% серной кислоты.

8. Для количественного подсчета общего IgA в смешанной слюне пациентов была построена калибровочная кривая зависимости плотности поглощения ОД450 от концентрации IgA человека.

Счет результатов производился на спектрофотометре мультискан iMarkTM (BIO-RAD, США) при длине волны 450 нм.

### **2.6 Методы компьютерного анализа.**

С помощью программы Microsoft Exсel производился расчёт параметров средних величин и их отклонений для последующего статистического анализа данных.

Были использованы следующие формулы:

1. Расчет среднего арифметического (М):

М = ,

где n – количество случаев, V – варианта, p – частота наблюдения варианты в среде.

1. Среднеквадратическое отклонение:

σ= ,

где d - отклонение варианты от средней арифметической (d=M-V),

p - частота наблюдения варианты в среде, n – количество наблюдений.

1. Для оценки достоверности средней арифметической - показатель m (средняя ошибка средней арифметической).

,

где σ – среднеквадратичное отклонение, а n – количество наблюдений.

1. Для оценки достоверности различий полученных показателей использовался критерий Стьюдента (t).

t =;

В качестве порогового уровня статистической значимости использовали p=0,05.

## **Глава 3. Результаты исследований**

### **3.1 Результаты клинических исследований**

**3.1.1 Результаты клинических исследований пациентов до лечения.**

Для получения результатов клинических исследований пациентов до проведенного лечения был проведен анализ по следующим пунктам:

* Анамнез настоящего заболевания;
* Анамнез жизни обследуемого;
* Стоматологический осмотр;
* Гигиеническая оценка состояния полости рта;
* Оценка состояния тканей пародонта.

А) По результатам обследования все пациенты предъявляли жалобы на кровоточивость при чистке зубов (из них 85 % также отмечали появление симптома при приеме пищи, а 25 % обследованных наблюдали кровоточивость без какой-либо причины), отечность, воспалительные явления десен, а также неприятный запах изо рта. Также пациенты отмечали попадание пищи между зубами и появление зуда или жжения в полости рта в 40 % и 35 % соответственно. В 65 % случаев обследуемые указывали на наличие подвижности или смещения зубов. Ухудшение общего состояния не наблюдалось.

Таблица 2

Жалобы пациентов контрольной и основной групп до лечения

|  |  |
| --- | --- |
| Жалобы | Количество выявленных жалоб, % |
| Кровоточивость во время чистки зубов, приема пищи, самопроизвольная | 25 |
| Неприятный запах изо рта | 100 |
| Зуд и жжение в деснах | 35 |
| Подвижность зубов | 65 |
| Смещение зубов | 65 |
| Попадание пищи между зубами | 40 |
| Отек, воспаление десен | 100 |
| Ухудшение общего состояния | 0 |

При опросе пациентов было установлено, что у большинства имеется длительный характер течения заболевания, а именно более 5 лет, причем лишь у 9 опрошенных отмечалась эффективность ранее проведенного лечения. У остальных пациентов лечение не проводилось или было неэффективным.

Предполагаемые пациентами причины возникновения заболевания: 7 пациентов (35%) связывают возникновение заболевания с наследственным анамнезом, 1 пациент (5%) – с проводимым ранее ортопедическим лечением, 1 пациент (5%) – с неудовлетворительной гигиеной полости рта, 11 пациентов (55%) затрудняются назвать предполагаемую причину возникновения заболевания.

Б) При изучении анамнеза жизни у всех пациентов установлено сопутствующее подтвержденное соматическое заболевание – сахарный диабет II типа, что является одним из критериев включения в группу для проведения исследования.

У всех обследуемых выявлена патология сердечно-сосудистой системы, в 40 % случаев - патология желудочно-кишечного тракта, в 5 % случаев - дыхательной системы. Указывают на наличие аллергических реакций 25% обследуемых.

В) Оценка гигиенических навыков обследуемых пациентов позволяет сделать вывод о том, что больше половины (65%) обследованных проводят ежедневную гигиену полости рта дважды в день щеткой и зубной пастой, причем 5 из них используют дополнительные средства, такие как флосс, ополаскиватель или ирригатор. 5 пациентов проводят чистку зубов 1 раз в день. Отсутствие гигиенических навыков выявлено у 2 обследованных.

Г) При обследовании тканей пародонта выявлены гиперемия, отек маргинальной и прикрепленной десны у 95% обследованных. В 15% случаев отмечена гиперемия и отек только маргинальной десны. Экссудация из пародонтальных карманов присутствуют у всех пациентов, подвижность – у 80% обследованных преимущественно 1-2 степени. Рецессия десны определялась у 75% пациентов, средняя величина составила 1,22 ± 0,26мм. Поражение фуркаций в области моляров верхней и нижней челюсти было выявлено у 45% обследованных.

При обследовании пациентов оценивали показатель клинической потери пародонтального прикрепления, среднее значение которого составило 3,9±0,1 мм.

В ходе оценки взаимоотношений зубных рядов в максимальном контакте было установлено, что у половины пациентов был выявлен ортогнатический прикус, у 7 обследованных (35%) наблюдалась глубокая травмирующая окклюзия. У 3 пациентов были выявлены другие аномалии зубочелюстного соотношения.

Коррекция уздечек верхней и нижней губ, преддверия и тяжей слизистой оболочки полости рта показана 14 пациентам.

Индексная оценка КПУ, среднее значение которой составило 23,5±1,13, свидетельствует об очень высоком уровне интенсивности кариозного процесса твердых тканей зубов согласно общепринятым данным.

Д) Результаты оценки гигиенического состояния полости рта представлены в таблице 3.

Таблица 3

Индексная оценка гигиенического состояния полости рта

|  |  |
| --- | --- |
| Индекс гигиены полости рта | Среднее значение |
| Упрощенный индекс гигиены (OHI−S, Green, Vermillion) | 4,76±0,31 |
| Индекс гигиены Силнес-Лоу  (Silness, Loe) | 2,39±0,13 |

По приведенным данным можно сделать вывод о том, что у обследуемых наблюдается высокий индекс гигиены OHI-S, что демонстрирует очень плохой уровень гигиены полости рта; это также подтверждает полученное значение индекса Силнес-Лоу.

E) Результаты оценки пародонтологического состояния полости рта представлены в таблице 4.

Таблица 4

Индексная оценка состояния тканей пародонта

|  |  |
| --- | --- |
| Пародонтологичесекий индекс | Среднее значение |
| Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс  (PMA) | 81,76±4,18 % |
| Кровоточивость при зондировании (ВОР) | 91,94±2,07 % |
| Индекс нуждаемости в парoдонтологическом лечении  (CPITN) | 2, 93±0,08 |

Полученные данные при проведении индекса PMA позволяют сделать вывод о том, что у обследуемых пациентов отмечается гингивит тяжелой степени тяжести. Это также подтверждает высокое значение индекса кровоточивости при проведении зондировании пародонтальных карманов.

Значение индекса нуждаемости в пародонтологическом лечении свидетельствует о наличии пародонтальных карманов с преимущественной глубиной до 4-5 мм.

Статистически значимых различий в группах пациентов до лечения не наблюдается (p>0,05)

**3.1.2 Результаты клинических исследований пациентов после лечения.**

Анализ данных, полученных в ходе клинических исследований после проведенного лечения основывался на повторном сборе жалоб, стоматологическом осмотре, а также на индексной оценке гигиенического и пародонтологического статуса полости рта.

У всех пациентов после проведенного лечения отмечалась стабилизация воспалительного процесса и улучшение состояния тканей пародонта. Для проведения анализа полученных результатов предъявляемых жалоб пациентов и сравнительной оценки эффективности лечения пациентов основной и контрольной групп приведены следующие результаты в таблице 5 и на рисунке 1,2.

Таблица 5

Динамика жалоб пациентов контрольной и основной групп

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Жалобы | Основная группа  («M-Chip»), % | | Контрольная группа  («Мирамистин»),% | |
| до | после | до | После |
| Кровоточивость во время чистки зубов | 100 | 0 | 100 | 10 |
| Кровоточивость во приема пищи | 80 | 0 | 90 | 0 |
| Кровоточивость самопроизвольная | 40 | 0 | 10 | 0 |
| Неприятный запах изо рта | 100 | 0 | 100 | 0 |
| Зуд и жжение в деснах | 50 | 0 | 40 | 0 |
| Подвижность зубов | 40 | 0 | 90 | 70 |
| Смещение зубов | 40 | 40 | 90 | 90 |
| Попадание пищи между зубами | 60 | 0 | 30 | 0 |
| Отек, воспаление десен | 100 | 0 | 100 | 10 |
| Ухудшение общего состояния | 0 | 0 | 0 | 0 |

Рис. 1 Динамика жалоб пациентов основной группы до и после лечения

Рис. 2 Динамика жалоб пациентов контрольной группы до и после лечения

Для основной группы пациентов характерно практически полное отсутствие жалоб после проведенного лечения. Указывают на сохранение смещения зубов 40% обследуемых.

В контрольной группе сохраняется кровоточивость во время чистки зубов в 10% случаев, как и отек и воспаление десен. Указывают на подвижность зубов 70% пациентов. Смещение также сохраняется в неизменном виде.

При проведении стоматологического осмотра в обеих группах наблюдается смена гиперемированного фона десны на обычную окраску. У 6 пациентов контрольной группы сохраняется небольшая гиперемия вершин межзубных сосочков или маргинальной десны, в основной – у двоих. Подвижность зубов отмечена у 9 пациентов контрольной группы~~,~~ преимущественно 1 степени, и у одного пациента основной группы.

Наблюдается полное отсутствие экссудации из пародонтальных карманов в основной группе пациентов, в лечение которых был использован препарат «M-Chip», в то время как в ирригация 0,01% раствора «Мирамистина» привела к уменьшению значений данного показателя до 40%.

Оценка изменения клинической потери пародонтального прикрепления у пациентов после проведенного лечения (таблица 6, рис. 3) показала эффективность проведенного комплексного лечения в обеих группах (p <0,05). Определяются статистически значимые различия между результатами лечения у пациентов контрольной и основной групп (p <0,05).

Таблица 6

Динамика уровня клинического прикрепления у пациентов контрольной и основной групп

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| УКП, мм | Основная группа  («M-Chip») | | | Контрольная группа  («Мирамистин») | | |
| до | после | p | до | После | p |
| 3,72±0,05 | 3,11±0,04 | <0,05 | 4,10±0,12 | 3,51±0,25 | <0,05 |

Рис. 3 Динамика уровня клинического прикрепления у пациентов контрольной и основной групп

Результаты оценки состояния полости рта согласно стоматологическим индексам, а также динамика их показателей после проведенного лечения представлена в таблице 7.

Таблица 7

Динамика показателей стоматологических индексов

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Индекс | Основная группа  («M-Chip») | | | Контрольная группа  («Мирамистин») | | |
| до | после | p | до | После | p |
| Упрощенный индекс гигиены (OHI−S, Green, Vermillion) | 4,42±0,34 | 0,10±0,04 | <0,05 | 5,1±0,23 | 0,34±0,08 | <0,05 |
| Индекс гигиены Силнес-Лоу  (Silness, Loe) | 2,2±0,08 | 0,04±0,03 | <0,05 | 2,5 ±0,16 | 0,26±0,06 | <0,05 |
| Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс, %  (PMA) | 76,2±3,6 | 3,33±0,53 | <0,05 | 87,4± 4 | 9,83±2,14 | <0,05 |
| Кровоточивость при зондировании, % (ВОР) | 93±1,6 | 5,09±1,26 | <0,05 | 90,9±2,49 | 19,21 ±4,36 | <0,05 |
| Индекс нуждаемости в парoдонтологическом лечении  (CPITN) | 2,98±0,02 | 2,58±0,13 | <0,05 | 2,88±0,11 | 2,80±0,11 | >0,05 |

Полученные показатели гигиенических индексов указывают на то, что комплексное лечение хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести, включавшее в себя обязательное проведение профессиональной гигиены полости рта, было эффективным по отношению к пациентам обеих групп, так как согласно общепринятым критериям полученные значения соответствуют хорошей гигиене полости рта. Также возможно предположить о повышении уровня гигиенических навыков у обследуемых. Динамика гигиенических индексов отображена на рисунках 4 и 5.

Рис. 4 Динамика гигиенических индексов у пациентов контрольной группы

Рис. 5 Динамика гигиенических индексов у пациентов основной группы

Используя статистический анализ выше изложенных результатов, были определены достоверные отличия между полученными значениями индексов OHI-S и Silness, Loe у пациентов всех групп до и после проведенного лечения, а также между значениями индексов основной и контрольной групп после лечения (p <0,05).

Анализируя данные, полученные в ходе оценки состояния тканей пародонтапосле проведенного лечения, отмечается что в обеих группах наблюдается регрессивное течение воспалительного процесса в тканях пародонта.

В частности, значение индекса PMA для контрольной группы 9,83±2,14% говорит о легкой степени тяжести гингивита, тогда как показатель 3,33±0,53% основной группы указывает на почти полное исключение признаков воспаления. (Рис. 6, 7) Отмечаются достоверные отличия между значениями индекса в обеих группах до и после проведенного лечения. Различия между показателями, полученными после проведенного лечения у обследуемых контрольной и основной групп также статистически значимы (p <0,05).

Рис. 6 Динамикаиндекса PMA у пациентов контрольной группы, %

Рис. 7 Динамика индекса PMA у пациентов основной группы, %

Динамика индекса кровоточивости при зондировании (BOP), отображенная на рисунках 8 и 9, показала снижение его значения. Согласно общепринятым критериям полученное значение 5,09±1,26% у пациентов основной группы, в лечении которых применялся препарат «M-Chip», подтверждает значительное улучшение состояние тканей пародонта. Эффект от ирригации 0,01% раствора «Мирамистина» уступает по отношению к предыдущему препарату (19,21±4,36%), при этом статистический анализ значений индекса свидетельствует о наличии достоверных отличий как в обеих группах до и после проведенного лечения, так и между основной и контрольной группами после лечения (p <0,05).

Рис. 8 Динамика индекса BOP у пациентов контрольной группы, %

Рис. 9 Динамика индекса BOP у пациентов основной группы, %

Учитывая динамику индекса CPITN (Рис. 10, 11), полученное значение 2,58±0,02 у пациентов основной группы свидетельствует об улучшении состояния тканей пародонта после проведенного лечения (p <0,05). В контрольной группе отмечается незначительное снижение значения индекса (2,80±0,11). Статистически значимых отличий после проведенного лечения у пациентов контрольной и основной групп не обнаружено (p>0,05).

Рис. 10 Динамика индекса CPITN у пациентов контрольной группы

Рис. 11 Динамика индекса CPITN у пациентов основной группы

Таким образом, применение препарата «M-Chip» у пациентов с сахарным диабетом II типа в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести приводило к значительному улучшению клинических показателей состояния полости рта, что подтверждается статистически значимым уменьшением значений индексов гигиены, индекса PMA, индекса кровоточивости BOP.

### **3.2 Результаты рентгенологического исследования**

У всех обследованных пациентов выявлены костные карманы в области 12±4 зубов. Также в 100 % случаях присутствует разрушение компактной пластинки костной ткани на всем протяжении. Деструкция костной ткани альвеолярного отростка характерна для каждого обследуемого, преимущественно в объеме от до .

Данные, полученные в ходе рентгенологического исследования, соответствуют клинической картине и поставленному диагнозу – хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести.

### **3.3 Результаты микробиологического исследования.**

**3.3.1** **Результаты микробиологического исследования до лечения.**

Для проведения анализа результатов микробиологического исследования у пациентов был произведен забор биологического материала из пародонтальных карманов. По полученным образцам была поставлена полимеразная цепная реакция, в ходе которой были идентифицированы следующие микроорганизмы, представленные в таблице 8 и на рисунках 12, 13.

Таблица 8

Микроорганизмы, выявленные в ходе ПЦР-скриннинга у пациентов до лечения

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Пациенты | Проба | *­­P. gingivalis* | *T. forsythia* | *P. intermedia* | *T. denticola* | *C. albicans* |
| Основная группа | | | | | | |
| 1 | 2.1 | **+** | - | - | - | - |
| 2 | 2.2 | **+** | - | - | - | - |
| 3 | 2.3 | **+** | - | + | + | +/- |
| 4 | 2.4 | **+** | - | - | - | - |
| 5 | 2.5 | **+** | - | - | - | - |
| 6 | 2.6 | - | - | - | - | - |
| 7 | 2.7 | **+** | + | - | - | - |
| 8 | 2.8 | **+** | - | - | - | - |
| 9 | 2.9 | - | + | - | - | - |
| 10 | 2.10 | - | + | - | - | - |
| Контрольная группа | | | | | | |
| 1 | 2.11 | + | - | - | - | - |
| 2 | 2.12 | + | - | - | - | - |
| 3 | 2.13 | + | - | - | - | - |
| 4 | 2.14 | + | - | - | - | - |
| 5 | 2.15 | - | - | - | - | - |
| 6 | 2.16 | + | - | - | - | - |
| 7 | 2.17 | - | - | - | - | - |
| 8 | 2.18 | - | - | - | - | - |
| 9 | 2.19 | - | - | - | - | - |
| 10 | 2.20 | + | - | - | - | - |

В результате проведенного ПЦР-скрининга было выяснено, что наиболее часто встречающимся пародонтопатогеном является *P. gingivalis* - в 65% случаях, а в 55% выявляется изолировано в качестве единственного причинного патогена, провоцирующего развитие пародонтита. Другие представители «красного комплекса» *T. forsythia* и *T. denticola* наблюдались в 15% и 5% случаях соответственно. Причем, выявление *T. forsythia* как единственного пародонтопатогена «красного комплекса» характерно в 10% случаев, а в 5 % - совокупно с *P. gingivalis*.

Пародонтопатоген «оранжевого комплекса» *P. intermedia* выявлен у 5% пациентов в сочетании с *P. gingivalis, T. denticola*, а также с *C. albicans* – представителем рода грибов *Candida.*

Рис. 12 Частота встречаемости идентифицированных микроорганизмов

Рис. 13 Частота встречаемости основных комплексов микроорганизмов

**3.3.2 Результаты микробиологического исследования после лечения.**

В результате повторного забора биологического материала из пародонтальных карманов у пациентов после проведенного лечения и постановки ПЦР-скрининга полученных образцов, были идентифицированы следующие микроорганизмы, отображенные в таблицах 9, 11 соответственно.

Таблица 9

Микроорганизмы, идентифицированные в ходе ПЦР-скриннинга у пациентов основной группы

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Пациент | Проведенное лечение | *­­P. gingivalis* | *T. forsythia* | *P. intermedia* | *T. denticola* | *C. albicans* |
| 1 | до | **+** | - | - | - | - |
| после | **+** | - | - | - | - |
| 2 | до | **+** | - | - | - | - |
| после | **+** | - | + | + | - |
| 3 | до | **+** | - | + | + | +/- |
| после | **-** | - | - | - | - |
| 4 | до | **+** | - | - | - | - |
| после | - | - | - | - | - |
| 5 | до | **+** | - | - | - | - |
| после | **+** | - | - | - | - |
| 6 | до | - | - | - | - | - |
| после | - | - | - | - | - |
| 7 | до | **+** | + | - | - | - |
| после | + | - | + | + | - |
| 8 | до | **+** | - | - | - | - |
| после | + | - | - | - | - |
| 9 | до | - | + | - | - | - |
| после | - | - | - | - | - |
| 10 | до | - | + | - | - | - |
| после | - | - | - | - | - |

Учитывая выше описанные данные, характерные для пациентов основной группы, можно сделать следующие выводы:

1. Несмотря на проведенное лечение, отмечается выявление пародотопатогенов «красного комплекса». Из них *P. gingivalis*- у 50% обследуемых, *T. denticola* – в 20 % случаев.
2. Отсутствие *T. forsythia* у обследованных пациентов свидетельствует о полной элиминации данного патогена, при исходном значении – 30%.
3. Полная элиминация также характерна и для *C. albicans*.
4. Пародонтопатоген «оранжевого комплекса» *P. intermedia* выделяется в 20% случаев, причем совместно с *P. gingivalis* и *T. denticola* – патогенными микроорганизмами «красного комплекса».

Динамика изменения частоты встречаемости микроорганизмов (таблица 10, рис. 14) свидетельствует о сохранении патогенной микрофлоры в пародонтальных карманах у пациентов основной группы после проведенного лечения (p >0,05).

Таблица 10

Динамика изменения частоты встречаемости микроорганизмов в основной группе

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Микроорганизмы | До лечения | | После лечения | |
| Число пациентов | Процент, % | Число пациентов | Процент, % |
| *­­P. gingivalis* | 7 | 70 | 5 | 50 |
| *T. forsythia* | 3 | 30 | 0 | 0 |
| *P. intermedia* | 1 | 10 | 2 | 20 |
| *T. denticola* | 1 | 10 | 2 | 20 |
| *C. albicans* | 1 | 10 | 0 | 0 |

Рис. 14Динамика частоты встречаемости микроорганизмов в основной группе, %

Следовательно, несмотря на клиническую эффективность применения препарата «M-Chip» наблюдается мало эффективное воздействие на патогенную микрофлору пародонтальных карманов. Это подтверждает данные [31] об усилении патогенности микроорганизмов полости рта на фоне сахарного диабета II типа и свидетельствует о возможности рецидивирующего течения хронического генерализованного пародонтита. Соответственно, для достижения стойкой ремиссии заболевания целесообразно изменить тактику комплексного лечения, дополнив ее системным приемом антибактериальных препаратов.

Учитывая данные таблицы 11, у пациентов контрольной группы также отмечается сохранение патогенных микроорганизмов в пародонтальных карманах несмотря на проведенное лечение.

У обследованных пациентов было выявлено наличие пародонтопатогенов «красного» и «оранжевого» комплексов. В 60 % случаях было выявлено наличие *P. gingivalis*. У 50 % обследованных отмечено присутствие *T. denticola.* Частота идентификации *P. intermedia* составляет 40%, причем в 30% случаях совместно с *P. gingivalis и T. denticola.*

Таблица 11

Микроорганизмы, идентифицированные в ходе ПЦР-скриннинга у пациентов контрольной группы

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Пациент | Проведенное лечение | *­­P. gingivalis* | *T. forsythia* | *P. intermedia* | *T. denticola* | *C. albicans* |
| 1 | до | + | - | - | - | - |
| после | **+** | - | - | + | - |
| 2 | до | + | - | - | - | - |
| после | **+** | - | + | + | - |
| 3 | до | + | - | - | - | - |
| после | + | - | + | + | - |
| 4 | до | + | - | - | - | - |
| после | + | - | - | + | - |
| 5 | до | - | - | - | - | - |
| после | **-** | - | +/- | - | - |
| 6 | до | + | - | - | - | - |
| после | + | - | + | + | - |
| 7 | до | - | - | - | - | - |
| после | - | - | - | - | - |
| 8 | до | - | - | - | - | - |
| после | - | - | - | - | - |
| 9 | до | - | - | - | - | - |
| после | - | - | - | - | - |
| 10 | до | + | - | - | - | - |
| после | + | - | - | - | - |

Динамика изменения частоты встречаемости микроорганизмов в контрольной группе (таблица 12, рис. 15) указывает на недостаточную эффективность проведенного лечения, включавшего ирригацию пародонтальных карманов 0,01% раствором «Мирамистина». Наблюдается не только стабильность выявления пародонтопатогена *P. gingivalis*, но и появление *P. intermedia* и *T. denticola* в 40% и 50% случаях соответственно.

Таблица 12

Динамика изменения частоты встречаемости микроорганизмов в контрольной группе

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Микроорганизмы | До лечения | | После лечения | |
| Число пациентов | Процент, % | Число пациентов | Процент, % |
| *­­P. gingivalis* | 6 | 60 | 6 | 60 |
| *T. forsythia* | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *P. intermedia* | 0 | 0 | 4 | 40 |
| *T. denticola* | 0 | 0 | 5 | 50 |
| *C. albicans* | 0 | 0 | 0 | 0 |

Рис. 15 Динамика частоты встречаемости микроорганизмов в контрольной группе, %

Статистический анализ динамики встречаемости микроорганизмов выявил отсутствие достоверно значимых отличий между результатами проведенного лечения у пациентов основной и контрольной групп (p >0,05).

### **3.4 Результаты иммунологического исследования**

Для иммунологического исследования у пациентов обеих групп был произведен забор смешанной слюны до и после лечения. Полученные образцы были подвергнуты иммуноферментному анализу с количественным определением содержания общего IgA в смешанной слюне с целью оценки влияния проведенного лечения на уровень местного иммунитета полости рта.

Для количественного подсчета общего IgA в смешанной слюне пациентов была построена калибровочная кривая зависимости плотности поглощения ОД450 от концентрации IgA человека.

Данные, полученные в результате проведенного иммуноферментного анализа продемонстрированы в таблице 13.

Таблица 13

Концентрация общего IgA в смешанной слюне пациентов основной и контрольной групп до и после лечения

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Пациент | До лечения | После лечения | Увеличение IgA после лечения, % |
| IgA (мг/мл) | IgA (мг/мл) |
| Контрольная группа | | | |
| 1 | 15,33 | 20,40 | 33,1 |
| 2 | 22,20 | 30,10 | 35,6 |
| 3 | 19,98 | 30,20 | 51,2 |
| 4 | 22,98 | 23,01 | 0,0 |
| 5 | 26,58 | 29,22 | 9,9 |
| 6 | 29,22 | 31,50 | 7,8 |
| 8 | 17,82 | 18,93 | 6,2 |
| 9 | 22,38 | 25,20 | 12,6 |
| 10 | 23,22 | 25,20 | 8,5 |
| Среднее значение | 22,19± 1,49 | 25,97±1,61 | 51±12 |
| Основная группа | | | |
| 1 | 16,47 | 23,10 | 40,3 |
| 2 | 22,80 | 29,07 | 27,5 |
| 3 | 29,4 | 29,27 | 0,0 |
| 4 | 22,11 | 25,02 | 13,2 |
| 5 | 24,33 | 29,21 | 20,1 |
| 6 | 22,02 | 26,67 | 21,1 |
| 7 | 22,20 | 30,10 | 35,6 |
| 8 | 26,13 | 26,18 | 0,0 |
| 9 | 21,60 | 25,71 | 19,0 |
| 10 | 24,18 | 28,11 | 16,3 |
| Среднее значение | 23,12±1,12 | 27,24 ±0,75 | 19 ±4 |

У большинства пациентов в обеих группах отмечено увеличение количества общего IgA в смешанной слюне сразу после проведенного лечения. Согласно известным данным в ходе воспалительных процессов в полости рта происходит снижение содержания общего IgA [35]. По полученным данным наблюдается увеличение общего IgA, что свидетельствует о положительном влиянии проведенного лечения на восстановительные процессы в тканях пародонта и местного иммунитета. Статистически значимых отличий в увеличении общего IgA после проведенного лечения в слюне пациентов между двумя группами не обнаружено (p>0,05).

## **Заключение**

Целью настоящего исследования являлась клинико-микробиологическая и иммунологическая оценка эффективности местного применения препарата пролонгированного действия «M-Chip» в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести у пациентов с сахарным диабетом II типа.

Полученные результаты свидетельствуют о значительной эффективности применения препарата «M-Chip». Отмечалось более выраженное купирование клинических признаков воспаления тканей пародонта в сравнении с ирригацией пародонтальных карманов 0,01% раствором «Мирамистина». Наряду с клиническим улучшением состояния наблюдалась также положительная динамика индексных показателей.

На основании иммунологического обследования было отмечено, что для большинства пациентов характерна положительная динамика показателя местного иммунитета, заключающаяся в увеличении концентрации общего IgA в смешанной слюне сразу после проведенного лечения, что подтверждает клиническую эффективность местного применения препарата пролонгированного действия у пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести.

Однако, несмотря на клиническую эффективность, результаты микробиологического исследования демонстрируют недостаточное воздействие местного применения антисептического препарата «M-Chip» в отношении идентифицированных микроорганизмов. После проведенного лечения наблюдалось выявление пародонтопатогенов «красного» и «оранжевого» комплексов, а именно *P. gingivalis, T. denticola* и *P. intermedia*.

Учитывая наличие у обследованных пациентов сахарного диабета II типа, можно предположить о повышении патогенности, а также резистентности микрофлоры пародонтальных карманов к местному применению антисептических препаратов в связи с увеличением бактериальной инвазии, снижении защитных и репаративных свойств организма и тканей пародонтального комплекса, а также развитием макро, и микроангиопатий, обусловленных гипергликемией.

Ссылаясь на исследования Николаевой М.О. (2019), И. Ф. Алехановой, Е. Е. Васенева, М. М. Рыжковой (2019) с доказанной эффективностью применения препарата «M-Chip» в лечении воспалительных заболеваний пародонта и полученные положительные клинические и иммунологические результаты в данной работе, можно сделать вывод о наличии значительной эффективности комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита с местным применением препарата пролонгированного действия «M-Chip» у пациентов с сахарным диабетом II типа. Однако, для достижения длительной ремиссии заболевания целесообразно дополнить схему лечения системным приемом антибактериальных препаратов.

Таким образом, в результате данного исследования все поставленные задачи были выполнены и сделаны соответствующие выводы.

### **Выводы:**

1. По результатам микробиологического исследования у обследованных пациентов были выявлены пародонтопатогены «красного» и «оранжевого» комплексов, а именно *P. gingivalis, T. forsythia, P. intermedia, T. denticola*, причем наибольшая частота встречаемости до 65% характерна для *P. gingivalis*. В ходе ПЦР-скрининга также было обнаружено наличие в пародонтальных карманах *C. albicans*.
2. Оценка динамики клинических и иммунологических показателей у пациентов с сахарным диабетом II типа в ходе комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести с местным применением препарата пролонгированного действия «M-Chip» свидетельствует об улучшении качественных и количественных показателей состояния тканей пародонта.
3. Результаты микробиологического исследования показали недостаточную эффективность препарата «M-Chip» в отношении к элиминации пародонтопатогенных микроорганизмов у пациентов с сахарным диабетом II типа и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести, что диктует необходимость дополнительного введения в схему лечения системного приема антибактериальных препаратов.

## **Практические рекомендации:**

Для лечения хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести у пациентов с сахарным диабетом II типа рекомендовано местное применение препарата пролонгированного действия «M-Chip» совместно с системным приемом антибактериальных препаратов.

## **Список литературы:**

* 1. Цепов Л. М., Николаев А. И., Михеева Е. А. Диагностика, лечение и профилактика заболеваний пародонта, 3-е изд. - М.: МЕДпресс-информ - 2008. – 272с.
  2. Смирнова М.А., Сурдина Э.Д. Консервативные методы лечения заболеваний пародонта: учеб. пособие. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2009. – 32 с.
  3. В. Ф. Михальченко Эффективность лечебно-профилактических мероприятий у больных хроническим генерализованным пародонтитом на фоне сахарного диабета II типа: дисс. на соиск. уч. ст. к.м.н.» - Волгоград: 2018.
  4. Янушевич О.О., Заболевания пародонта. Современный взгляд на клинико-диагностические и лечебные аспекты [Электронный ресурс] / Янушевич О.О., Гринин В.М., Почтаренко В.А., Рунова Г.С. / Под ред. О.О. Янушевича - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 160 с. (Серия "Библиотека врача-специалиста")
  5. Гударьян А.А., Шандыба С.И., Эффективность местного дифференцированного использования мембран при хирургическом лечении генерализованного пародонтита у больных сахарным диабетом 2 типа – журнал «Вестник Стоматологии»; Издательство «Институт стоматологии Национальной академии медицинских наук Украины (Одесса)» 2014
  6. Renvert, S. Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis. Relation between microbiological and clinical parameters during 5 years. / S. Renvert, M. Wikatom // J. Clin. Periodontol. – 1996. –№ 23 (5)
  7. Sanz M., Ceriello A., Buysschaert M. et al. Scientifi cevidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology // J. Clin. Periodontol. 2018. Vol. 45 (2). P. 12. doi: 10.1111/jcpe.12808
  8. Петрова Т.Г., Бородина Н.Б., Рымар С.Д., Рымар О.Д. Взаимодействие стоматолога с эндокринологом – командный подход в лечении воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (обзор литературы). Пародонтология. 2019;24(2):140-144.
  9. Царев В.Н., Николаева Е.Н., Максимовский Ю.М. и др. Применение полимеразной цепной реакции для диагностики и контроля эффективности лечения генерализованного пародонтита // Российский стоматологический журнал. – 2002. - №2. – С. 27-34.
  10. Ванченко Н.Б., Сеираниду З.А., Абдулахова Д.А., Караков К.Г.,Хачатурян Э.Э. Журнал Современные проблемы науки и образования. Раздел Медицинские науки (14.01.00, 14.03.00)– 2018. – № 2
  11. Аметов А.С., Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения. Том 1. [Электронный ресурс]: учеб. пос. / Аметов А.С. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 352 с.
  12. Под редакцией проф. Г.В. Порядина, проф. Ж.М.Салмаси. Составители: доц. Ю.В.Шарпань, доц. Н.Л.Богуш Патофизиология углеводного обмена. Сахарный диабет. Методическая разработка для самостоятельной работы студентов лечебного и педиатрического факультетов.
  13. Янушевич О.О., Заболевания пародонта. Современный взгляд на клинико-диагностические и лечебные аспекты [Электронный ресурс] / Янушевич О.О., Гринин В.М., Почтаренко В.А., Рунова Г.С. / Под ред. О.О. Янушевича - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 160 с. (Серия "Библиотека врача-специалиста")
  14. Янушевич О.О., Терапевтическая стоматология [Электронный ресурс] / О.О. Янушевич, Ю.М. Максимовский, Л.Н. Максимовская, Л.Ю. Орехова - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 760 с.
  15. Грудянов А.И. Заболевания пародонта – М.: Издательство «Медицинское информационное агенство», 2009 – 336.: ил.
  16. Socransky S. S., and A. D. Haffajee. “Periodontal Microbial Ecology.” Periodontology 2000 38, no. 1 (2005): 135–87.
  17. Джураева, Ш. Ф. Клинико-эпидемиологическая характеристика воспалительно-деструктивных поражений тканей пародонта у больных нарушением глюкозного гомеостаза / Ш. Ф. Джураева, М. В. Воробьев //Практическая медицина. - 2016. - № 8. - С. 104-106.
  18. Карданова Л.В., Балкаров А.О., Шхагапсоева К.А., Баразбиева С.М. Современные подходы в консервативном лечении хронического генерализованного пародонтита – Журнал «Успехи современной науки» №11. 2017
  19. Данилевский Н.Ф., Борисенко А.В. Заболевания пародонта Киев: Здоровье, 464 с. - 2000
  20. Злобина О. А., Рединова Т. Д. Состояние местного иммунитета полости рта у больного сахарным диабетом // Тр. V съезда Стоматологической Ассоциации России. — М., 1999. — С. 195-196.
  21. Salvi, G. E. Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus populations/ G. E. Salvi [et al.] // J Periodontol. - 1997. – Vol. 68. – P. 127–135.
  22. Mealey, B. L. Periodontal disease and diabetes. A two-way street / B.L. Mealey // J Am Dent Assoc. – 2006. - 137 Suppl. – P. 26-31.
  23. Lalla, E. Periodontal infections and diabetes mellitus: When will the puzzle be complete? / E. Lalla // J Clin Periodontol. – 2007. – Vol. 34. – P. 913–916.
  24. Вырмаскин, С. И. Механизм разработки направлений борьбы с сахарным диабетом / С. И. Вырмаксин // Фундаментальные и прикладные исследования в современном мире. - 2016. - № 13(3). - С. 5-7.
  25. Sreebny, L. M. Xerostomia in diabetes mellitus / L. M. Sreebny, A.V.Green // Diabetes Care. - 2006. -Vol. 15. - P. 900-904.
  26. Селифанова, Е. И. Стоматологический статус и особенности кристаллизации слюны у больных сахарным диабетом: автореф. дис. … канд. мед. наук / Е. И. Селифанова. – М., 2005. – 21 с.
  27. Еловикова, Т. М. Особенности морфологической картины ротовой жидкости у больных сахарным диабетом 2-го типа в условиях стационара до и после курсового применения ополаскивателя для полости рта / Т. М. Еловикова [и др.]. – Пародонтология. – 2013. - № 3. - С. 51-54
  28. Бондаренко, О. В. Характеристика изменений слизистой оболочки полости рта при сахарном диабете и их профилактика: автореф. дис. канд. мед. наук / О. В. Бондаренко. - Новосибирск, 2004. - 23с
  29. Ярова С.П., Саноян В.В. Патогенетические аспекты генерализованного пародонтита на фоне сахарного диабета II типа – Журнал «Вестник проблем биологии и медицины» Выпуск 4, 2010
  30. Беркутова И.С. «Комплексное лечение хронического генерализованного пародонтита с применением современных антибактериальных препаратов: дисс. на соиск. уч. ст. к.м.н.» - Москва: 2015.
  31. Александров, Е. И. Течение кариеса и заболеваний пародонта при сахарном диабете / Е. И. Александров // Медико-социальные проблемы семьи. – 2011. - Т.16, № 1. - С. 129-132.
  32. Ю.Ю. Романова д.м.н., проф. М.К. Макеева «Барьерные средства с пролонгированным выделением медикаментозных препаратов в стоматологической практике» стоматология 3, 2018
  33. И. Ф. Алеханова, Е. Е. Васенев, М. М. Рыжкова, сравнительная характеристика местных противовоспалительных препаратов при лечении заболеваний пародонта / Лекарственный вестник Издательство: Волгоградская медицинская палата (Волгоград), 2019. - № 3 (75). - С.32-39
  34. Алеханова, И. Ф. Использование препаратов на основе гиалоурановой й кислоты в пародонтологии / И. Ф. Алеханова, Е. Е. Васенев, О. А. Беличенко // Инновационная наука. –2016. – № 2–5 (14). – С. 99–101.
  35. И.В. Старикова, Н.Н. Триголос, И.В. Фирсова и др. /Оценка комплексного лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом на фоне метаболического синдрома по клинико-иммунологическим показателям/ Вестник ВолГМУ, Выпуск 2 (54), 2015

## **Приложение**

**Приложение 1**

Карта обследования стоматологического больного. Страница 1



**Приложение 2**

Карта обследования стоматологического больного. Страница 2



**Приложение 3**

Карта обследования стоматологического больного. Страница 3



**Приложение 4**

Карта обследования стоматологического больного. Страница 4

