

Горбунова И.Л., Ивашкеева И.П., Ефименко К.А., Колобова Д.О., Баранник А.А., Деревянко А.С

Обоснование эффективности местной антибактериальной терапии в комплексном лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ, г.Омск

Gorbunova I.L., Ivashkeeva I.P., Efimenko K.A., Kolobova D.O., Barannik A.A., Derevyanko A.S.

The local antibiotic therapy efficiency ground for the complex treatment of patients suffering from chronic generalized periodontitis

Резюме

Изучены полиморфизмы гена TNF- α при G(-308)→A у больных хроническим генерализованным пародонтитом в ассоциации с эффективностью местной антибактериальной терапией тканей пародонта. Было выявлено, что у больных хроническим генерализованным пародонтитом, являющихся носителями патологических полиморфизмов «G/G» и «G/A», проводимое антибактериальное лечение, назначаемое с учётом чувствительности микрофлоры пародонтального кармана к антибиотикам, менее эффективно, чем у больных хроническим генерализованным пародонтитом, являющихся носителями полиморфизма A/A.

Ключевые слова: Хронический генерализованный пародонтит, антибактериальная терапия, полиморфизмы гена TNF- α

Summary

The polymorphisms of TNF- α gene in G(-308)→A in patients suffering from chronic generalized periodontitis were studied in connection with the local antibiotic therapy of periodontal tissues efficiency. The conducted course of antibiotic treatment, that was administered with a glance for periodontal pocket microflora sensitivity to antibiotics, was established to be less effective in the patients suffering from chronic generalized periodontitis and being carriers of pathological polymorphisms «G / G» and «G / A» than in patients with chronic generalized periodontitis, carriers of the polymorphism A / A.

Keywords: chronic generalized periodontitis, antimicrobial therapy, polymorphisms of TNF- α gene

Введение

Хронический генерализованный пародонтит занимает одно из основных мест по частоте и распространённости среди стоматологических заболеваний. Многими исследователями показана полиэтиологичная природа заболеваний пародонта, причём большая роль в их развитии принадлежит воспалительным реакциям, спровоцированным микрофлорой полости рта [1,2].

В комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита одно из ведущих мест принадлежит местной антибактериальной терапии [1]. Снижая вирулентность микробной флоры пародонтального кармана и уменьшая её патогенный потенциал, современные антибактериальные препараты косвенно способствуют снижению воспалительной реакции в тканях пародонта. В настоящее время в практике врача - стоматолога пародонтолога имеется огромный ар-

сенал антибактериальных медикаментозных средств, представленных в виде гелей, ополаскивателей, растворов, эмульсий, дипленовых плёнок, бальзамов, десневых повязок. Однако применение антибактериальных препаратов в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита не всегда приводит к желаемому результату. Это связано, прежде всего, с индивидуальными особенностями биотопа полости рта, состоянием местного и общего иммунитета, анатомическими и физиологическими особенностями полости рта. Все эти факторы, воздействуя на разные звенья патогенеза воспаления пародонта, в комплексе приводят к стойкому воспалительному ответу и резистентности к назначаемым препаратам. В этой связи поиск новых возможностей повысить эффективность проводимой антибиотикотерапии остаётся весьма актуальным и своевременным.

Цель нашего исследования – обосновать эффективность местной противовоспалительной терапии хронического генерализованного пародонтита с учётом индивидуальных особенностей организма пациента.

Для достижения поставленной цели поставлены следующие задачи:

1. Изучить микробный пейзаж пародонтального кармана больных хроническим генерализованным пародонтитом и зубо-десневого желобка пациентов с интактным пародонтом с одновременным определением чувствительности флоры к антибактериальным препаратам.
2. В соответствии с результатами микробиологического исследования назначить комплексное консервативное лечение больным хроническим генерализованным пародонтитом и оценить эффективность проводимой терапии по истечении двух недель наблюдения.
3. Выяснить перспективность клинической оценки полиморфизма гена TNF- α (A/A, G/A, G/G) при G(-308)→A в качестве генетических маркеров тканевой резистентности пародонта.
4. Разработать практические рекомендации по коррекции консервативной терапии больным хроническим генерализованным пародонтитом, ассоциированным с полиморфизмами G/A и A/A гена TNF- α при G(-308)→A.

Материалы и методы

Было обследовано 20 пациентов с диагнозом «Хронический генерализованный пародонтит лёгкой, средней или тяжёлой степени». Стадия обострения». Среди обследованных было 8 мужчин и 12 женщин. Средний возраст обследованных лиц составлял $56 \pm 1,2$ лет. Контрольная группа представлена лицами, не имеющими признаков воспаления в тканях пародонта. Среди этой категории обследованных было 7 мужчин и 10 женщин. Средний возраст лиц, оставляющих контрольную группу, составил $53 \pm 1,8$ года. Репрезентативность выборок рассчитывали по формуле Lopez-Jimenez [3]. Отсутствие воспаления в тканях пародонта регистрировалось по показателям ряда клинических индексов: РМА, индексу кровоточивости по Мюллеман, пробе Шиллера-Писарева, пародонтальному индексу Рассела и костному показателю Фукса [4]. У всех обследованных проводилось определение индекса гигиены полости рта (ОНИ-S) по методике Green J., Vermillion J. [5]

На следующем этапе исследования нами был определён видовой состав бактериальной флоры пародонтального кармана у больных хроническим генерализованным пародонтитом и пробы с зубо-десневого желобка пациентов с интактным пародонтом с применением ПЦР. При этом одновременно проводилось изучение чувствительности представленной флоры к антибактериальным препаратам, традиционно входящим в схемы комплексного лечения хронического пародонтита.

Зуб изолировали ватными шариками, осторожно высушивали стерильными тампонами. Забор содержимого пародонтального кармана проводили специальной стерильной петлёй. Материал получали с дистальной по-

верхности моляров верхних челюстей. После этого бак. материал помещался в пробирку с питательной средой и незамедлительно транспортировался в лабораторию. Микробиологическое исследование проводилось на базе микробиологической лаборатории академического центра лабораторной диагностики Омского государственного медицинского университета. Всего были изучены пробы 10 пациентов с интактным пародонтом и 10 - с хроническим генерализованным пародонтитом, из которых 2 – с пародонтитом лёгкой степени, 4 - с пародонтитом средней степени тяжести и 4 – с тяжёлой степенью пародонтита.

Для изучения влияния гена TNF- α на течение воспалительной реакции в пародонте, нами было проведено молекулярно-генетическое исследование в лаборатории ДНК-диагностики кафедры патологической анатомии Омского государственного медицинского университета (заведующий – заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор А.В. Кононов). Исследование выполнено с использованием образцов ДНК, выделенных из венозной крови индивидов. Предварительно у всех пациентов было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. После забора цельной крови (3-4мл) у пациентов в вакуумную пробирку, производилось выделение чистого препарата ДНК и его генотипирование. Изучались полиморфизмы гена TNF- α с заменой гуанина на аденин в мутационной точке (-308).

Статистическая обработка материала осуществлялась с использованием ППП «STATISTICA 6.0» и SPSS 11.5 for Windows. Оценку соответствия частот генотипов равновесию Хайди-Вайнберга проводили с использованием критерия χ^2 с помощью компьютерной программы SPSS [6]. Вторичную структуру РНК оценивали с помощью компьютерной программы «Алгоритмы, термодинамика и базы данных для анализа вторичной структуры РНК на сетевом сервере» [7].

Исследование проведено в дизайне открытого одноцентрового, стратифицированного, контролируемого проспективного, поперечного кросс-секционного сравнительного.

Результаты и обсуждение

Клиническое обследование показало, что у 94% всех обследованных пациентов гигиена полости рта на момент первого осмотра была неудовлетворительной. Особенно обильные зубные отложения отмечались в группе больных пародонтитом и локализовались на язычных поверхностях передних зубов нижней челюсти, а также на щёчных поверхностях жевательных зубов верхних и нижней челюстей. Наименьший показатель индекса ОНИ-S по Green, Vermillion был зарегистрирован у лиц контрольной группы, он составлял $1,93 \pm 0,23$, однако он не имел статистически значимых различий с аналогичными показателями лиц с диагнозом «Хронический генерализованный пародонтит».

После проведённого исследования выяснилось, что у всех обследованных пациентов с диагнозом «Хрониче-

Бактериологический анализ		
Больной		
История болезни		
Отделение	АЦ/ЛД	
Биоматериал	Отделяемое слизистой зева	
Выделенные микроорганизмы	КОЕ/г	
[1] Streptococcus mitis	-	
[2] Streptococcus mutans	-	
Антибиотикограмма	[1]	[2]
Азитромицин	S	S
Бензилпенициллин	S	S
Клиндамицин	S	S
Левифлоксацин	S	S
Моксифлоксацин	S	S
Ляобактериофаг (секстафаг)	R	R
Стрептококковый бактериофаг	R	R

Рис.1. Характеристика видового состава бактериальной флоры пародонтальных карманов больных хроническим генерализованным пародонтитом с одновременным определением чувствительности представленной флоры к антибактериальным препаратам.

ский генерализованный пародонтит» флора пародонтального кармана представлена в основном стрептококками – Str. Mutans, Str. Mitis. При этом названные микроорганизмы были выявлены и в составе нормальной флоры ротовой полости лиц контрольной группы (см. рис.1).

В соответствии с полученными результатами чувствительности выявленной микрофлоры к определённым антибактериальным препаратам, они были включены в схему комплексной консервативной терапии, которая представляла собой:

1. Профессиональную гигиену полости рта с помощью ультразвукового модуля с индивидуальным подбором средств и методов гигиены, а также контролируемом определении индекса гигиены по Грину-Вермильон через неделю наблюдения.

2. Промывание пародонтальных карманов раствором Хлоргексидина биглюконата 0,06% №10 1р. в день.

3. Промывание пародонтальных карманов раствором Метрагила №10 1р. в день.

4. Аппликация в пародонтальные карманы раствора Ваготила 36% №5 1р. в день.

5. Инстиляция в пародонтальные карманы геля «Метрагил Дента» №10 1р. в день.

6. Фиксация на десну дипленовых плёнок с Метрагилом №10 1р. в день.

В домашних условиях:

- Сумамед 500 мг (2 капс.) 1 раз в сутки внутрь после еды, в течение 3 дней.

- Аппликации раствора Хлоргексидина биглюконата 0,06% + 1 таблетка Трихопола 0,25 №10 3р. в день, экспозиция 20 мин.

- Пальцевой массаж дёсен с гелем «Асепта» №10 2р. в день.

- Рассасывание таблеток «Имудон» до 8 таблеток в день, перерыв между рассасываниями – 2 часа. Рассасывать таблетки на протяжении 1 недели.

После проведённого лечения были повторно опре-

делены динамические индексы (РМА, индекс кровоточивости, проба Шиллера-Писарева), характеризующие эффективность проведённого лечения, что проявляется снижением или полным исчезновением воспалительной реакции в пародонте. При этом было отмечено, что у части больных (56%), страдающих хроническим генерализованным пародонтитом, показатели соответствующих индексов статистически значимо уменьшились по сравнению с исходными. При этом у остальных обследованных с диагнозом «Хронический генерализованный пародонтит» (44%) показатели соответствующих индексов не имели статистически значимых различий с исходными значениями. Среди лиц, у которых показатели динамических индексов не изменились после проведённого комплексного местного антибактериального лечения, были люди не только с тяжёлой, средней степенью течения заболевания, но и больные пародонтитом лёгкой степени.

Таким образом, у четырёх больных хроническим генерализованным пародонтитом из десяти, назначенное антибактериальное лечение с учётом чувствительности микрофлоры, не принесло ожидаемого эффекта – купирования воспалительного процесса в пародонте.

Это обстоятельство побудило нас к поиску тех индивидуальных особенностей организма, наличие которых обеспечивает резистентность микрофлоры пародонтальных карманов к проводимому антибактериальному лечению.

Современная концепция патогенеза заболеваний пародонта придаёт решающее значение балансу между бактериальной инвазией и локальной защитой тканей пародонта, определяющему конечные клинические проявления заболевания [2]. Факторы локальной тканевой защиты полости рта находятся под контролем ряда защитных механизмов, контролируемых иммунной, нервной, эндокринной, кровяной и другими системами, способных ограничить бактериальную инвазию и её поражающее воздействие на пародонт.

На уровне организма связь между иммунной, нервной, эндокринной, кроветворной и другими системами осуществляют гены, регулирующие реакцию воспаления в организме и служащие для их вовлечения в организацию и регуляцию защитных тканевых реакций.

В качестве генетического маркера воспаления нами был выбран ген цитокина TNF- α . Цитокины - это низкомолекулярные белковые регуляторные вещества, продуцируемые клетками и способные модулировать их функциональную активность. В состоянии физиологической нормы спектр их узок, но при стрессе, воспалении, повреждении расширяется количественный и качественный состав цитокинов, обладающих как местной, так и дистантной (гормональной) активностью. Повреждающий фактор TNF- α занимает ключевую позицию в развитии воспалительной реакции организма [8,9]. Действие TNF- α происходит в самом начале любого воспаления. Контактируя даже с единичными молекулами TNF- α , полиморфноядерные лейкоциты претерпевают сложную функциональную перестройку и приобретают новые свойства. В этой связи ген TNF- α выбран нами в качестве регулятора реакции воспаления при хроническом генерализованном пародонтите.

В ходе проведенного исследования было установлено, 18 человек из числа обследованных больных хроническим генерализованным пародонтитом, являются носителями генотипов «A/A» и «G/A» гена TNF- α при G(-308) \rightarrow A, что обуславливает более тяжелое течение воспаления в пародонте. Корреляционный анализ позволил установить зависимость значений основных клинических индексов, характеризующих состояние в тканях пародонта от носительства определенных генотипов. Выявлено, что у носителей генотипов «A/A» и «G/A» регистрировались более высокие значения индексов ПМА, кровоточивости и пародонтального индекса. Характерно, что именно у этих больных было отмечено отсутствие эффекта от проводимой антибактериальной терапии. Группа лиц, больных хроническим генерализованным пародонтитом, где, напротив, был получен терапевтический эффект от проводимого лечения, являлась носителями генотипа «G/G» гена TNF- α при G(-308) \rightarrow A. Что касается контрольной группы (лиц со здоровым пародонтом), то у них в равной степени были представлены все три изученных полиморфизма «G/G», «G/A» и «A/A».

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о клинической информативности полиморфизмов «A/A» и «G/A» гена TNF- α при G(-308) \rightarrow A в формировании генетической предрасположенности к пародонтиту. Наличие полиморфизмов «A/A» и «G/A» обеспечивают устойчивость к проводимому антибактериальному лечению. Эти полиморфизмы способны связываться с большим количеством рецепторов эпителия десневой борозды. Наличие этих же полиморфизмов и в контрольной группе свидетельствует о том, что присутствие аллеля A следует рассматривать как необходимый, но недостаточный фактор для развития пародонтита, и при адекватном уровне защиты тканей пародонта от повреждающего фактора, его патогенное действие не проявляется.

Выводы

1. При безуспешности антибактериальной терапии у больных хроническим генерализованным пародонтитом в течение двух недель необходимо включить в схему обследования определение полиморфизмов «G/G», «G/A» и «A/A» гена TNF- α при G(-308) \rightarrow A.

2. При повышении частот полиморфизмов «A/A» и «G/A» гена TNF- α при G(-308) \rightarrow A, данным пациентам необходимо диспансерное наблюдение с увеличением кратности и объема профилактических мероприятий, а также расширения спектра назначаемых противовоспалительных препаратов, не только местного, но и резорбтивного действия. ■

Горбунова И.Л., доктор медицинских наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО ОмГМУ МЗ РФ, г. Омск; **Ивашкева И.П.**, клинический ординатор кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО ОмГМУ МЗ РФ, г. Омск; **Ефименко К.А.**, врач-стоматолог БУЗОО «Городская клиническая стоматологическая поликлиника №1», г. Омск; **Колобова Д.О.**, клинический ординатор кафедры детской стоматологии ФГБОУ ВО ОмГМУ МЗ РФ, г. Омск; **Баранник А.А.** студентка IV курса стоматологического факультета ФГБОУ ВО ОмГМУ МЗ РФ, г. Омск; **Деревянко А.С.** студентка IV курса стоматологического факультета ФГБОУ ВО ОмГМУ МЗ РФ, г. Омск; Автор, ответственный за переписку - Деревянко Анна Сергеевна 644015, г. Омск, ул. Димитрова 71, кв. 101, тел. 89505075373, e-mail: derevyanko.anya@mail.ru

Литература:

1. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. – М.: Издательство «Медицинское информационное агентство», 2009. – 336 с.
2. Мюллер Х.-П. Пародонтология. Науч. ред. изд. на русск. яз. Проф. А.М. Политун. Пер. с нем. – Львов: ГалДент, 2004. – 256 с.
3. Lopez-Jimenez F. Problems and solutions in the interpretation of diagnostic tests / F. Lopez-Jimenez, L.E. Rohde, M.A. Luna-Jimenez // Rev. Invest. Clin. – 1998. – Vol. 50(1). – P.67-72.
4. Терапевтическая стоматология. Часть 2. Болезни пародонта / ред. Г.М. Барер [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 224 с.
5. Green I.C. The simplified oral hygiene index / I.C. Green, I.R. Vermillion // J. Amer. Dent. Ass. – 1964. – Vol. 68, № 1. – P. 7-13.
6. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере [Электронный ресурс] / В. Боровиков. – СПб., 2003.
7. <http://bioinfo.math.rpi.edu/~zukerm/rna>.
8. Рыдловская А. В. Функциональный полиморфизм гена

- TNF-α и патология / А. В. Рыдловская, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 4-10.*
9. *Симбирцев А. С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления / А. С. Симбирцев, А. Ю. Громова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 3-10.*
10. *Канканян А.П. Болезни пародонта (новые подходы в этиологии, патогенезе, диагностике, профилактике и лечении / А.П. Канканян, В.К. Леонтьев. – Ереван, 1998. – 358 с.*