

*На правах рукописи*

**ХАМУКОВА АСИЯТ АХМЕДОВНА**

**КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА НА  
ОСНОВАНИИ ИЗУЧЕНИЯ ГИПОКСИЯ-ЗАВИСИМЫХ  
АНТИМИКРОБНЫХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ**

3.1.7. Стоматология (медицинские науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кабардино - Балкарский государственный университет имени Х.М. Бербекова» институт стоматологии и челюстно - лицевой хирургии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Мустафаев Магомед Шабазович**

**Официальные оппоненты:**

**Иванова Елена Владимировна** – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра терапевтической стоматологии имени профессора В.С. Иванова, профессор кафедры

**Блашкова Светлана Львовна** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра терапевтической стоматологии, заведующая кафедрой

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России

Защита диссертации состоится « 18 » января 2022 г., в 10 часов на заседании диссертационного совета 21.2.016.02, созданного на базе ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России по адресу: г. Москва, ул. Долгоруковская, д.4. Почтовый адрес: 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр.1.

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

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор

**Гиюева Юлия Александровна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Патогенетические факторы развития воспалительных изменений в тканях пародонта, среди которых заслуживают внимания локальные механизмы нарушения тканевого дыхания, связаны с интенсивным образованием и накоплением реакционноактивных радикалов. Свободные радикалы за счет неспаренных электронов располагают высоким потенциалом к взаимодействию с химическими веществами. Реализация данного потенциала приводит к окислительной модификации сложных молекул – нуклеиновых кислот, белков, углеводов, нарушению дыхательных процессов в митохондриях, гидроксигированию жирных кислот, стероидов (W. Li, Y. Zhu, P. Singh, D.H. Ajmera et al., 2016). В результате в пародонте возникают деструктивные процессы ввиду повреждения ДНК, РНК рибосом, активации внутриклеточных ферментов и активного разрушения белков (M.R. Ling, I.L. Chapple, J.V. Matthews, 2015). Следствием нарушения тканевого дыхания является развитие в пародонте гипоксии, хронического воспалительного процесса и токсического воздействия продуктов воспаления (A.T. Phan, A.W. Goldrath, 2015; J.I. Piruat, J. López-Barneo, 2005). Еще в 1984 году в исследовании G.R. Mettraux с соавт. было установлено, что при колонизации пародонтогенных микробов в зубо-десневом желобке парциальное напряжение кислорода снижается с 8,4 кПа до 2,33 кПа (C.Ph.D. Mattern, 1996). При гингивите и развитии пародонтальных карманов формирование биопленки и размножение анаэробных бактерий приводит к еще более выраженному ограничению кислородного снабжения тканей, что имеет патогенетическое значение для прогрессирования хронического пародонтита. В последнее время благодаря молекулярно-генетическим исследованиям доказано, что адаптация к низкому напряжению кислорода или гипоксии в тканях опосредуется путем транскрипционного фактора, который называется гипоксия-зависимым фактором (Hypoxia-inducible factor, HIF) (S. Sandgren, A. Wittrup, F. Cheng, M. Jönsson et al., 2004; D.A. Scott, J. Krauss, 2012). При генетических исследованиях был установлен факт экспрессии HIF-1 $\alpha$  в тканях пародонта человека (G. Mori, G. Brunetti, S. Colucci, F. Ciccolella et al., 2007).

При лечении хронического генерализованного пародонтита (ХГП), кроме местных антисептических и антибактериальных средств, стоматологи обращают свое внимание на препараты, которые не содержат химических агрессивных агентов, обладают естественными механизмами нормализации функциональной активности клеток и тканей (Дмитриева Л.А., Крайнова А.Г.,

2013; Зорина О.А., Мустафина Ф.К., Борискина О.А., Беркутова И.С., Серебрякова О.А., 2016; Амхадова М.А., Абаев, З.М., Хамукова А.А., Демидова А.А., 2020). Одним из перспективных направлений в клинической практике является применение средств, которые, не изменяя состояния микробиоценоза различных биотипов полости рта, могут повысить уровень иммунной защиты и восстановить функции поврежденных клеток (Зорина О.А., Мустафина Ф.К., Борискина О.А., Беркутова И.С., Серебрякова О.А., 2018). Кофермент никотинамидаденин-динуклеотид (НАД), проникая через клеточную и митохондриальную мембраны, вступает в цикл Кребса, повышает выработку АТФ клеткой, нейтрализует свободные радикалы (А.А. Mamalis, D.L. Cochran, 2011). Разработан специальный дентальный гель, содержащий восстановленную форму НАД и представляющий собой один из мощнейших биологических антиоксидантов (J. Biddlestone, D. Vandarra, S.Rocha, 2015). Применение НАД при ХГП обеспечивает дополнительное воздействие на патогенетические механизмы воспаления и регенерации в ткани. При этом, его влияние на гипоксия-зависимые факторы регуляции иммунных реакций при ХГП неизвестны, что определяет интерес к проведению научных разработок данного плана.

#### **Степень разработанности темы исследования**

При ХГП дисбаланс в тканях между доставкой и потреблением кислорода приводит к накоплению HIF-1 $\alpha$ , усилению экспрессии под его влиянием генов фактора роста эндотелия сосудов, тромбоцитарного фактора роста, ангиопротейна-1 и -2, гена синтазы оксида азота, что улучшает локальное микроциркуляторное обеспечение (M. Erecinska, I.A. Silver, 2001). Кроме того, HIF-1 $\alpha$  перестраивает энергетический обмен клеток путем подавления аэробного дыхания и перехода к гликолизу, ограничивает включение пирувата в цикл Кребса (J. Karhausen, V.H. Haase, S.P. Colgan et al., 2005). Однако, если причина гипоксии и хронического воспаления не устранена, то тканевая гипоксия становится основным патогенетическим звеном для развития болезни, что требует принятия лечебных мер.

Если гипоксия-опосредованное усиление микроциркуляторных процессов в ткани при ХГП активно изучается, то вопросы влияния гипоксии, HIF-1 $\alpha$  на активность врожденного и адаптивного иммунитета, микробиоценоз полости рта, мало освещены в научной литературе. Между тем, известно, что регулируемый HIF-1 $\alpha$  гликолитический метаболизм необходим при дифференцировке В-лимфоцитов (J.W. Kim, I. Tchernyshyov, G.L. Semenza, C.V. Dang, 2006) и метаболизме Т-лимфоцитов (I. Papandreou, R.A. Cairns, L. Fontana, A.L. Lim et al., 2006). Это обуславливает высокий научный интерес к изучению гипоксия-регулируемых антимикробных иммунных реакций, в частности к взаимосвязи между накоплением HIF-1 $\alpha$  в тканях пародонта и секрецией антимикробного пептида кателицидина LL37,

провоспалительного и остеорезорбтивного медиатора интерлейкина-6 (ИЛ-6), продуцируемого многими иммунокомпетентными клетками.

Все вышеуказанное определяет значимость изучения диагностической и клинической информативности уровня HIF-1 $\alpha$  в локальных биотопах при воспалительных процессах полости рта в динамике лечения ХГП с дополнительным воздействием на энергетический метаболизм клеток.

### **Цель исследования**

Повышение эффективности диагностики, лечения и прогноза развития хронического пародонтита на основе современных методов исследования гипоксия-зависимых антимикробных иммунных комплексов.

### **Задачи исследования:**

1. Изучить диагностическую информативность клинико-лабораторных показателей у пациентов с хроническим пародонтитом в зависимости от степени тяжести.

2. Оценить диагностическую значимость определения у пациентов с хроническим пародонтитом транскрипционного гипоксия-зависимого фактора, антимикробного пептида и провоспалительного цитокина в экссудате во взаимосвязи с характеристиками микробиоценоза содержимого пародонтального кармана.

3. Определить клиническую эффективность дентального геля, содержащего кофермент никотинамидадениндинуклеотид, в составе комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита.

4. Установить патогенетическую значимость дентального геля, содержащего кофермент никотинамидадениндинуклеотид, для коррекции нарушений гипоксия-зависимых иммунных реакций при лечении ХГП.

5. Разработать метод лечения хронического пародонтита легкой и средней степени тяжести, направленный на коррекцию энергообмена клеток, с учетом содержания в экссудате пародонтальных карманов гипоксия-зависимого фактора-1 $\alpha$ , кателицидина LL37 и интерлейкина-6.

### **Новизна исследования**

Впервые изучено влияние транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  на секрецию антимикробного пептида кателицидина LL37 в полости рта и активность провоспалительного цитокина ИЛ-6 в тканях пародонта. В результате установлено влияние HIF-1 $\alpha$  на активность врожденного антимикробного иммунитета при развитии воспалительных изменений пародонта. Проведен анализ эффективности дополнительного воздействия на энергетический обмен посредством применения дентального геля, содержащего кофермент НАД, при лечении ХГП. Впервые установлено, что использование дентального геля с коферментом НАД сопровождалось коррекцией гипоксии в тканях, о чем свидетельствовало снижение уровня HIF-1 $\alpha$  в экссудате пародонтальных карманов. В работе доказано, что при снижении уровня HIF-1 $\alpha$  в содержимом пародонтальных карманов происходило сочетанное ограничение синтеза ИЛ-6 и кателицидина LL37, что по совокупности отражало эффективное ограничение воспалительного

повреждения тканей пародонта при коррекции энергетического метаболизма в тканях пародонта.

### **Теоретическая и практическая значимость**

В работе дана объективная оценка состояния гипоксия-зависимого контроля врожденного антимикробного иммунитета и секреции провоспалительного медиатора ИЛ-6 при ХГП и разработаны критерии оптимизации лечения заболевания. Установлены дифференциальные уровни концентрации ИФ-1 $\alpha$  и кателицидина LL37 в содержимом пародонтальных карманов для прогноза течения ХГП. Доказано, что превышение концентрации биомаркеров относительно установленных разделительных критериев являлось патогенетическим обоснованием для назначения дентального геля с коферментом НАД при лечении ХГП у пациентов при аллергии на компоненты стандартных противовоспалительных средств и/или дисбактериозе кишечника, когда складывались ограничения к обработке пародонтальных карманов антисептическими стоматологическими гелями. Доказано повышение клинической эффективности лечения ХГП легкой и средней степени тяжести при дополнительном назначении к стандартной терапии дентального геля с коферментом НАД.

### **Методология и методы исследования**

В проведенной диссертационной работе использована методология организации проспективного исследования со сравнительным анализом клинической эффективности оптимизации стандартного лечения в основной и контрольной группах. Методы исследования: клинические способы оценки стоматологического статуса, иммунологический иммуноферментный анализ, генетические исследования параметров биологического материала, статистические способы изучения медико-биологических результатов. Объект изучения - 60 пациентов в возрасте 30-45 лет в динамике лечения ХГП легкой и средней степени тяжести (МКБ К 05.3). Предмет исследования: хронический генерализованный пародонтит, врожденный иммунитет, антимикробная защита, пародонтопатогенные микроорганизмы, жидкость зубодесневого желобка, медиаторы воспаления, интерлейкин-6, транскрипционные факторы, ИФ-1 $\alpha$ .

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Гипоксия-зависимые реакции контроля врожденной иммунной защиты полости рта у пациентов с ХГП являются патогенетически значимыми при развитии неблагоприятного течения заболевания.
2. Гипоксия-зависимые реакции контроля врожденной иммунной защиты полости рта, проявляющиеся совместным повышением концентрации в содержимом пародонтальных карманов ИФ-1 $\alpha$ , антимикробного пептида кателицидина LL37 и цитокина ИЛ-6, активируются при средней тяжести ХГП.
3. Дополнительное назначение дентального геля с коферментом НАД к стандартному лечению ХГП средней степени тяжести сопровождается повышением клинической эффективности терапии за счет активации

гипоксия-зависимых и иммунорегуляторных защитных механизмов, локального ограничения воспаления и деструкции тканей пародонта.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Высокая степень достоверности результатов диссертации обусловлена четкой постановкой цели и задач исследования, логичным и последовательным изложением гипотез и доказательств, применением адекватных для анализа результатов медико-биологических исследований, статистических методов. На первом организационном этапе был разработан дизайн исследования с определением необходимого числа больных для доказательства выдвинутых гипотез, при обсуждении материала привлечен обширный круг источников научной литературы последних лет.

Молекулярно-генетические и иммунологические исследования были проведены с использованием методов описательной статистики, при оценке различия средних величин применяли непараметрические критерии Манна-Уитни и Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при величине доверительной вероятности  $p < 0,05$ . Клинические исследования проводились с учетом современных высокоинформативных методов диагностики и лечения, анализа полученных результатов.

### **Личный вклад автора в выполнение работы**

Личный вклад автора в проведение диссертационного исследования заключался в непосредственном исполнении следующих разделов: подбор и анализ источников научной информации по теме; обследование и лечение больных, входящих в группы исследования; забор биологического материала с доставкой в лаборатории (жидкость зубодесневого желобка и экссудат пародонтальных карманов); статистический анализ клинических и лабораторных показателей.

Диссертантом проведены анализ статистических данных, полученной научной информации, интерпретация результатов, разработаны новые меры оптимизации лечения ХГП в сложной клинической ситуации при аллергии на компоненты стандартных противовоспалительных средств и дисбактериозе кишечника.

Автором лично проведены оформление и подготовка научных публикаций.

Диссертационная работа выполнена на базе ФГБОУ ВО «КБГУ им. Х.М.Бербекова» Институт стоматологии и челюстно - лицевой хирургии в соответствии с планом научной работы по проблеме 19.02 – «терапевтическая стоматология» в отделении терапевтической стоматологии.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования внедрены в работу терапевтического отделения ГБУЗ «Республиканский стоматологический центр имени Т.Х.Тхазаплизева» Министерства здравоохранения Кабардино-Балкарской Республики, ООО «ГАММА», Северо - Кавказском научно - практическом центре челюстно-лицевой хирургии и стоматологии С - MED. Материалы используются при обучении ординаторов и аспирантов.

### **Апробация работы**

Апробация диссертации проведена на совместном заседании международной комиссии по проведению апробации диссертационных работ сотрудников Института стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х.М. Бербекова», кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х.М. Бербекова», кафедры хирургической стоматологии и имплантологии факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО «МОНИКИ им.М.Ф.Владимирского», кафедры факультетской терапевтической стоматологии Ташкентского государственного стоматологического института, кафедры хирургической и детской стоматологии НАО «Западно-Казахстанский государственный медицинский университет имени Марата Оспановича» 19.04.2021 года.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация имеет соответствие с паспортом научной специальности «3.1.7 – стоматология (медицинские науки)». Формула специальности: «стоматология – область науки, занимающаяся изучением этиологии, патогенеза основных стоматологических заболеваний (кариес зубов, заболевания пародонта и др.), разработкой методов их профилактики, диагностики и лечения. Совершенствование методов лечения стоматологических заболеваний будет способствовать сохранению здоровья населения страны». Область исследований соответствует пункту 2. Отрасль наук: медицинские науки.

### **Публикации**

Опубликовано по материалам исследования 3 печатные работы в изданиях, входящих в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации, в том числе 2 публикации в международных изданиях, включенных в базы данных Scopus.

### **Объем и структура диссертации**

Объем диссертационной работы составляет 141 страницу текста. Работа состоит из введения, обзора научной литературы по теме, главы по материалам и методам исследования, главы с результатами собственных исследований, главы по обсуждению полученных результатов, заключения, выводов и практических рекомендаций. Указатель использованной литературы включает 207 источников, из них 45 российских и 162 иностранных. Иллюстрации диссертации представлены 3 схемами, 33 таблицами и 30 рисунками.



## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследования формировали общую клиническую группу из 60 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (МКБ К 05.3) легкой и средней степени тяжести на фоне аллергии на компоненты стандартных противовоспалительных средств, включая аллергию на метрогил, дисбактериоза кишечника III-IV степени. До начала лечения характеризовали исходный пародонтологический статус, проводили отбор содержимого пародонтальных карманов (ПК) для последующего качественно-количественного анализа концентрации пародонтогенных микроорганизмов с помощью мультиплексной ПЦР-системы и определения содержания ИФ-1 $\alpha$ , интерлейкина-6 и кателицидина - LL37 методом иммуноферментного анализа. Оценивали диагностическую значимость транскрипционного фактора ИФ-1 $\alpha$ , антимикробного пептида кателицидина-LL37 и провоспалительного ИЛ-6 во взаимосвязи с характеристиками микробиоценоза содержимого пародонтального кармана и с учетом тяжести ХГП.

*Критериями включения* пациентов в общую клиническую группу были:

- хронический генерализованный пародонтит легкой и средней степени тяжести (МКБ К 05.3);
- возраст больных 30-45 лет;
- аллергии на компоненты стандартных противовоспалительных средств, включая аллергию на метрогил;
- дисбактериоз кишечника III-IV степени;
- пациенты, подписавшие добровольное информированное согласие на участие и полностью информированные о цели исследования.

*Критериями невключения* явились:

- пациенты с ХГП, потерей клинического приклепления, глубиной ПК более или равно 6 мм, в стадии обострения;
- пациенты с агрессивным течением пародонтита;
- пациенты с тяжелой общесоматической патологией, включающей онкологические заболевания, декомпенсацию сердечно-сосудистых заболеваний;
- пациенты, системно принимающие медикаментозные препараты общего или местного действия, в том числе стероидные или нестероидные противовоспалительные, антибиотики, антимикробные препараты, в ходе исследования или менее чем за 3 месяца до начала исследования;
- наличие беременности или период грудного вскармливания;
- пациенты, имеющие в анамнезе аллергическую реакцию на кофермент НАД.

*Критериями исключения* были:

- отказ пациента от динамического наблюдения в указанные сроки наблюдения;

-развившаяся аллергическая реакция на применяемое лекарственное средство при лечении ХГП.

На втором этапе зависимости от тактики лечения выделены две группы: 1 группа (n=30) – в состав комплексного лечения пациентов дополнительно к стандартному лечению включена обработка ПК дентальным гелем с восстановленной формой кофермента НАД (экспозиция по 20 мин 1 раз в день в течение 10 дней). Дентальный гель с коферментом НАД был направлен на коррекцию энергообмена и активацию окислительно-восстановительных реакций в тканях пародонта, улучшение локального микроциркуляторного обеспечения, антиоксидантную защиту в условиях ограничения применения антимикробных средств. 2 группа (n=30) - пациенты получали стандартное лечение ХГП, включающее устранение микробного налета и удаление зубных минерализованных отложений ультразвуковым способом, полирование поверхностей зубов, антисептическую обработку.

По окончании лечения контроль гигиены полости рта и определение пародонтальных индексов осуществляли через 14 дней (ранний период наблюдения), 3 месяца (окончание восстановительного периода функционального состояния после воспалительных заболеваний) и 6 месяцев (начало отдаленного периода наблюдения), а концентрацию гипоксия-зависимых антимикробных иммунных комплексов в содержимом ПК измеряли через 3 и 6 месяцев.

На окончательном этапе исследования проводили оценку эффективности дополнительного назначения дентального геля с коферментом НАД в составе комплексного лечения ХГП для коррекции нарушений гипоксия-зависимых иммунных реакций по динамике HIF-1 $\alpha$ , кателицидина LL37 и ИЛ-6 в содержимом ПК.

Общую клиническую группу составили 34 женщины (56,7%) и 26 (43,3%) мужчин (схема 2). Средний возраст женщин был  $37,5 \pm 0,78$  лет (медиана 38 лет) и мужчин  $38,8 \pm 0,71$  лет (медиана 39 лет, межквартильный диапазон 36-43 года).

контрольную группу для иммунологических показателей вошли 15 практически здоровых лиц (8 мужчин и 7 женщин) возраста 30-40 лет без патологии пародонта, у которых определяли значения изучаемых иммунологических показателей в норме.

60 пациентов наблюдались с диагнозом K05.31 по МКБ-10 (хронический генерализованный пародонтит).

В классификации МКБ-10 отсутствуют сведения о разделении пациентов, страдающих ХГП, по тяжести заболевания. По данным литературы главным системообразующим параметром, позволяющим разделить пациентов по тяжести ХГП, является глубина ПК. Пациенты с ХГП в зависимости от глубины ПК были разделены на две категории – с легкой степенью тяжести (глубина ПК до 3,5 мм) и средней степенью тяжести (глубина ПК от 4 до 5 мм включительно). Число пациентов с легкой степенью тяжести составило 27 (45%), а со средней степенью тяжести – 33 (55%).

При обследовании пациентов диагноз ХГП устанавливали на основании опроса и сбора жалоб пациента, анамнеза, клинических, рентгенологических и лабораторных методов обследования. Для оценки состояния десен и степени тяжести гингивита использовали *папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА)* в модификации Parma (1960). *Пародонтальный индекс (PI)* (Russel A.L., 1956) позволил оценить степень патологии пародонта. Выделяли три ранга: начальная и легкая степень воспалительных изменений пародонта (PI=0,1–1,0 баллов), среднетяжелая степень (PI=1,5–4,0 баллов), тяжелая степень (PI=4,0–8,0 баллов).

Для подтверждения диагноза и оценки состояния альвеолярного отростка челюстей проводили цифровую ортопантограмму и компьютерную томограмму в отделении рентгенологии ГБУЗ «Республиканский стоматологический центр имени Т.Х.Тхазалижева» Минздрава КБР. Ортопантограмма челюстей позволяла оценить величину и характер резорбции альвеолярной кости. При анализе ортопантограмм обращали внимание на форму, высоту и состояние межальвеолярных перегородок и кортикальной пластинки альвеолярного отростка, расширение периодонтальной щели, остеопороз межальвеолярных перегородок и костной ткани тела челюстей. Для оценки типов десневых карманов, их глубины, и распространенности, состояния костной ткани, окружающей зуб, в различных плоскостях, активности деструктивного процесса использовали компьютерную томографию.

Рентгеновское исследование осуществляли на универсальной рентгеновской системе Orthophos XG 5 («Sirona», Германия). Компьютерная томография выполнялась на спиральном компьютерном томографе HiSpeed DX/I (фирмы General Electric).

Все пациенты подписывали форму информированного согласия на участие в исследовании.

Жидкость из ПК собирали путем погружения бумажных эндодонтических штифтов размером №25 в пародонтальный карман не менее, чем на 10 сек, максимально стараясь достичь дна кармана или самих глубоких отсеков. Сорбировали экссудат. Объем экссудата определяли по разнице весов бумажного штифта до и после сорбции экссудата.

Метод ПЦР в режиме реального времени использовали для качественно-количественного определения пародонтопатогенных бактерий в содержимом ПК с помощью панели «Дентоскрин» (ООО НПФ «Литех», Россия).

Иммуноферментный анализ проводили на приборе Lisa ("Эрба Лахема с.р.о.", Чехия). В биологической жидкости последовательно определяли концентрацию HIF-1 $\alpha$ , ИЛ-6 и кателицидина LL37. В каждом случае использовали соответствующие тест-системы: ELISA Kit for Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF1 $\alpha$ ) (Cloud-Clone Corp., США), набор реактивов для иммуноферментного анализа интерлейкина-6 человека (BENDER MEDSYSTEMS GMBH, Австрия), набор реагентов для количественного

определения кателицидина LL-37 методом иммуноферментного анализа (Hycult Biotechnology (H.V.T.) B.V., Нидерланды).

Все полученные результаты исследования пациентов заносились в индивидуальную регистрационную карту пациента, представленную в таблице 2. Из аналоговой регистрационной карты первичные данные пациентов переносили в электронную таблицу, сформированную в табличном процессоре Microsoft Excel. Далее систематизированные первичные данные экспортировали в программу STATISTICA 12.0 (StatSoft, США), с помощью которой осуществляли этапы статистического анализа.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Исходно у пациентов с ХГП отмечено удовлетворительное состояние гигиенического статуса полости рта. Индекс РМА у пациентов общей клинической группы имел величину в среднем  $42,6 \pm 1,58\%$  с колебанием в межквартильном диапазоне от 22 до 50%. Глубина пародонтальных карманов у пациентов с ХГП соответствовала тяжести воспалительных изменений пародонта: при легкой степени -  $2,85 \pm 0,17$  мм и средней степени тяжести заболевания -  $4,97 \pm 0,14$  мм. У пациентов с ХГП легкой степени пародонтальный индекс имел величину  $1,12 \pm 0,05$  баллов, а при ХГП средней степени -  $2,75 \pm 0,11$  баллов. Таким образом, в общем по клинической группе у пациентов были установлены удовлетворительный уровень гигиенического статуса полости рта, средняя степень интенсивности гингивита и средняя степень выраженности воспалительных изменений пародонта по индексу Рассела.

В 1 группе число пациентов с легкой степенью тяжести ХГП было 14 (46,7%), а со средней степенью тяжести ХГП - 16 (53,3%). Во 2 группе число пациентов с легкой степенью тяжести ХГП было 13 (43,3%), а со средней степенью тяжести ХГП - 17 (56,7%). Соотношение между пациентами легкой и средней степенью тяжести ХГП в 1 и 2 группах не различалось ( $p > 0,05$ ).

У здоровых доноров в содержимом зубо-десневого желобка концентрация  $\text{HIF-1}\alpha$  была в среднем  $81,2 \pm 1,20$  пг/мкл с колебанием от 74 до 91 пг/мкл. Межквартильный диапазон составил от 77,6 до 84,3 пг/мкл.

У больных с ХГП легкой и средней степенью тяжести в общем по группе концентрация  $\text{HIF-1}\alpha$  была в среднем  $196,4 \pm 13,87$  пг/мкл с колебанием от 76 до 378 пг/мкл, медианой 176,4 пг/мкл и межквартильным диапазоном 92,5-302,6 пг/мкл. По сравнению со здоровыми донорами содержание  $\text{HIF-1}\alpha$  в пародонтальных карманах было выше в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ).

Концентрация  $\text{HIF-1}\alpha$  в содержимом пародонтальных карманов у пациентов с ХГП зависела от тяжести заболевания: при ХГП легкой степени составляла  $89,9 \pm 1,69$  пг/мкл, а при ХГП средней степени была выше в 3,15 раз ( $p < 0,001$ ) и соответствовала  $283,6 \pm 10,75$  пг/мкл (Рисунок 1).

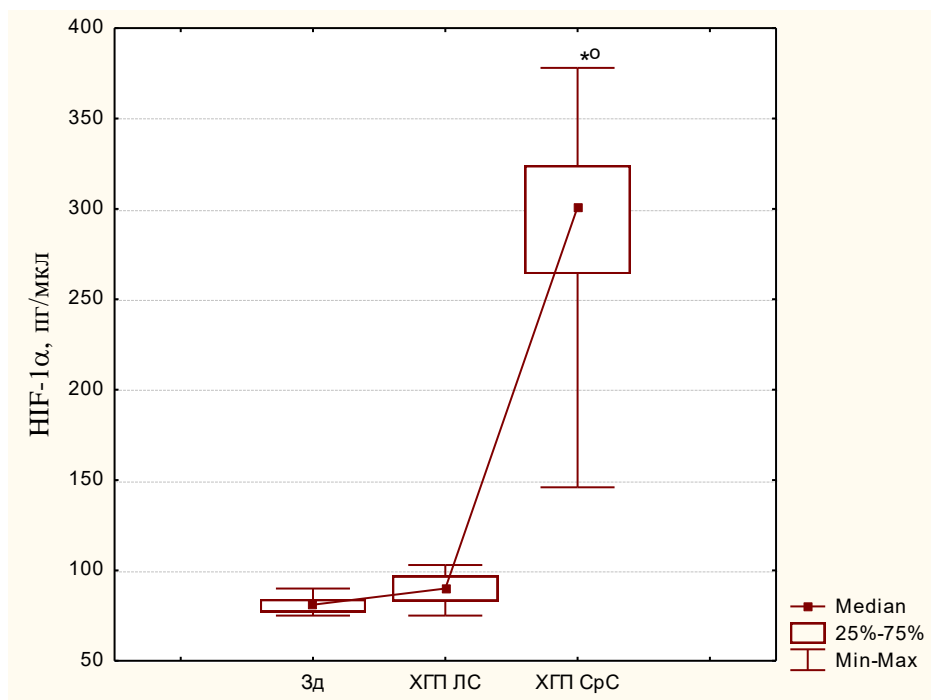


Рисунок 1. Показатели медианы, межквартильного диапазона и размаха концентрации HIF-1 $\alpha$  у пациентов с ХГП легкой (ЛС) и средней тяжести (СрС) и у здоровых лиц (Зд). \* - статистически значимые различия по сравнению со здоровыми лицами, o – по сравнению с пациентами с ХГП легкой степени при  $p < 0,05$ .

Следовательно, накопление гипоксия-зависимого фактора контроля транскрипционных процессов в клетках в пародонтальных карманах при ХГП имело место только при средней степени тяжести заболевания в отличие от легкой степени заболевания.

Нами был выявлен факт повышения HIF-1 $\alpha$  в десневой жидкости, активирующего транскрипционные процессы в клетках пародонта при ХГП. Наличие усиленной экспрессии белка HIF-1 $\alpha$  в биоптатах десневой ткани у пациентов с ХГП было установлено ранее в молекулярно-генетических исследованиях (G. Mori, G. Brunetti, S. Colucci, F. Ciccolella, 2007, G.L. Semenza, 2014), при оценке экспрессии генов и самого изучаемого фактора в биоптатах ткани. Нами обнаружено повышение концентрации HIF-1 $\alpha$  в биологических жидкостях полости рта, что имело диагностически значимую информационную ценность. Определение уровней HIF-1 $\alpha$ , VEGF и ФНО- $\alpha$  в десневой жидкости у пациентов с гингивитом и ХГП ранее было проведено только в единственном исследовании В. Afacan с соавт. (2018) (Цепов Л.М., Голева Н.А., 2009). В данном труде было отмечено повышение содержания HIF-1 $\alpha$ , VEGF и ФНО- $\alpha$  в десневой жидкости при ХГП. Однако, акцент сделан на агрессивно протекающем воспалительном процессе в периодонте. В нашем исследовании актуальной задачей явилась оценка информативности определения фактора HIF-1 $\alpha$  в воспалительном экссудате пародонтальных карманов при средней степени тяжести ХГП в отличие от легкой степени и

здоровых, когда ключевым клиническим признаком становится наличие остеодеструкции.

Обнаруженные данные указывают на роль гипоксия-зависимых механизмов в регуляции иммунных реакций в ответ на бактериальное воспаление тканей пародонта и последующую деструкцию костных тканей пародонта. Значительный прирост уровня HIF-1 $\alpha$  в содержимом пародонтальных карманов был установлен у пациентов со средней степенью тяжести ХГП, что явилось новым постулатом, имеющим диагностическую информативность.

У пациентов с ХГП в общей клинической группе концентрация ИЛ-6 в содержимом пародонтальных карманов в 12,6 раз ( $p < 0,001$ ) превышала уровень цитокина в десневой жидкости у здоровых лиц. Повышение провоспалительного цитокина ИЛ-6 в экссудате ПК при ХГП было выраженным как при легкой степени воспалительных изменений пародонта (в 11,4 раза), так и при средней степени тяжести (13,6 раза) по сравнению с уровнем ИЛ-6 в десневой жидкости у здоровых лиц.

У пациентов с ХГП в общей клинической группе концентрация кателицидина LL37 в содержимом пародонтальных карманов в 2,9 раз ( $p < 0,001$ ) превышала уровень антимикробного пептида в десневой жидкости у здоровых лиц ( $7,2 \pm 0,07$  пг/мл). Уровень кателицидина LL37 в экссудате пародонтальных карманов у пациентов при ХГП легкой степени составлял  $12,0 \pm 0,5$  пг/мл, а при ХГП средней степени тяжести был в 2,3 раза выше ( $27,7 \pm 0,49$  пг/мл). Таким образом, выраженное повышение кателицидина LL37 в содержимом пародонтальных карманов имело место при средней степени тяжести ХГП.

Концентрация кателицидина LL37 повышается при воспалительных изменениях в тканях (S.E. Groeger, J. Meyle, 2015). Данный антимикробный пептид выступает как аттрактант для моноцитов, нейтрофилов и Т-лимфоцитов, способствуя активации Т-клеточного иммунитета (V. Nizet, R.L. Gallo, 2003). Его врожденные антимикробные свойства обусловлены прямым электростатическим взаимодействием с бактериями с образованием сквозных дыр в мембране-мишени (T. Kong, H.K. Eltzschig, J. Karhausen, S.P. Colgan et al., 2004). Однако в высоких концентрациях кателицидин LL37 может оказать токсическое повреждающее воздействие и на нормальные клетки тканей (Кит О.И., Комарова Е.Ф., Кононенко В.И., 2016). Существует гипоксия-зависимый контроль секреции кателицидина LL37. Генетическая делеция, при которой происходит снижение экспрессии гена *HIF1A*, сопровождается снижением синтеза кателицидина LL37 (E. Ozcan, N.I. Saygun, M.A. Serdar, V.U. Bengi et al., 2016).

Для характеристики взаимосвязи между иммунорегуляторными и кислород-зависимыми защитными реакциями при ХГП был проведен корреляционный анализ. В результате была выявлена очень тесная взаимосвязь между концентрацией HIF-1 $\alpha$  и антимикробного пептида кателицидина LL37 ( $R = 0,88$ ;  $p < 0,001$ ), тесная связь между антимикробным

защитным фактором и провоспалительным цитокином ИЛ-6 ( $R=0,70$ ;  $p<0,001$ ) и умеренная связь между концентрацией HIF-1 $\alpha$  и провоспалительным медиатором ИЛ-6 ( $R=0,56$ ;  $p<0,001$ ) (Таблица 1).

Таблица 1

Результаты корреляционного анализа между иммунорегуляторными и кислород-зависимыми факторами в содержимом пародонтальных карманов при ХГП

Биомаркеры	HIF-1 $\alpha$	ИЛ-6
ИЛ-6	$R=0,56$ ; $p<0,001$	
Кателицидин LL37	$R=0,88$ ; $p<0,001$	$R=0,70$ ; $p<0,001$

Следовательно, HIF-1 $\alpha$  в большей степени контролирует синтез антимикробного пептида кателицидина LL37, способствуя его накоплению. Как известно, лейкоциты в тканевых локусах воспаления для обезвреживания фагоцитируемых микробов одновременно используют кислородзависимые и кислороднезависимые антимикробные механизмы. При этом участие HIF-1 $\alpha$  заключается в усилении транскрипции генов антимикробных полипептидов (X.J. Yu, C.J. Xiao, Y.M. Du, S. Liu et al., 2015). Меньшее по выраженности, но весомое влияние HIF-1 $\alpha$  оказывает на синтез провоспалительного медиатора ИЛ-6. ИЛ-6 при воспалительных изменениях пародонта контролирует каскад деструктивных событий в тканях пародонта. Эти события включают усиленный синтез воспалительных ферментов и медиаторов (матриксные металлопротеиназы и простагландины) в тканях, активацию остеокластов, а также дифференцировку через рецепторный активатор ядерного фактора RANKL путей необратимого повреждения мягких и твердых тканей пародонта при ХГП. Гипоксия стимулирует индуцированные липополисахаридами микробов реакции синтеза ФНО- $\alpha$ , интерлейкина-1 $\beta$  и интерлейкина-6 через Толл-рецепторы (D.P. Gale, P.H. Maxwell, 2010; Prapulla DV, Sujatha PB, Pradeep AR., 2007). Таким образом, установленная в работе взаимосвязь между факторами HIF-1 $\alpha$ , кателицидин LL37 и ИЛ-6 в содержимом пародонтальных карманов имеет патофизиологическое объяснение.

На следующем этапе была изучена связь между биомаркерами и клиническими пародонтальными индексами у пациентов с ХГП (Таблица 2).

Таблица 2

Результаты корреляционного анализа между иммунорегуляторными и кислород-зависимыми факторами в содержимом пародонтальных карманов при ХГП

Биомаркеры	ИГ	РМА	Глубина ПК	ПИ
НIF-1 $\alpha$	R=0,76; p<0,001	R=0,72; p<0,001	R=0,76; p<0,001	R=0,93; p<0,001
ИЛ-6	R=0,87; p<0,001	R=0,78; p<0,001	R=0,71; p<0,001	R=0,59; p<0,001
Кателицидин LL37	R=0,77; p<0,001	R=0,73; p<0,001	R=0,84; p<0,001	R=0,92; p<0,001

Концентрация НIF-1 $\alpha$  в содержимом пародонтальных карманов при ХГП в большей мере была связана с необратимым пародонтальным индексом Рассела (R=0,93; p<0,001), интегративно характеризующим деструкцию тканей пародонта, ИЛ-6 – с индексом гигиены (R=0,87; p<0,001) и выраженностью гингивита (R=0,78; p<0,001), а кателицидин LL37 – с глубиной ПК (R=0,84; p<0,001) и пародонтальным индексом (R=0,92; p<0,001).

Методом ROC анализа были найдены дифференциально-диагностические точки разделения для концентрации биомаркеров, помогающие разграничить при ХГП поражение пародонта легкой и средней степени тяжести.

Повышение концентрации НIF-1 $\alpha$  в содержимом пародонтальных карманов у пациентов с ХГП более 103 пг/мкл было ассоциировано с развитием средней степени поражения пародонта с диагностической чувствительностью 87,1% и специфичностью 79,3% (Рисунок 2).

Площадь под ROC кривой составила 0,820 $\pm$ 0,06 (доверительный интервал 0,701-0,939), что свидетельствовало о высоком качестве разделения двух клинических состояний. Доверительная вероятность отклонения ROC кривой от диагональной линии была высокой и составила p<0,0001 (z=5,277).

При повышении уровня НIF-1 $\alpha$  выше 103 пг/мкл, риск развития ХГП средней степени тяжести возрастал в 4,2 раза.

С развитием средней степени поражения пародонта при ХГП было сопряжено повышение концентрации кателицидина LL37 в содержимом пародонтальных карманов у пациентов с ХГП более 17,2 пг/мл с диагностической чувствительностью 88% и специфичностью 65,7% (Рисунок 3).



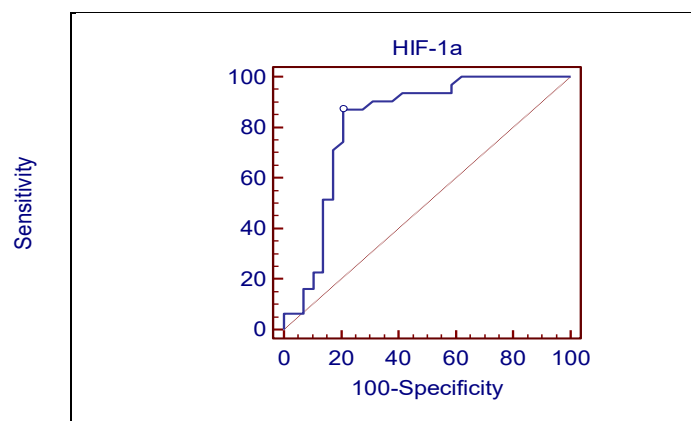


Рисунок 2. ROC-кривая соотношения чувствительности и специфичности при определении точки разделения между ХГП легкой и средней степени тяжести по концентрации HIF-1 $\alpha$  в содержимом пародонтальных карманов

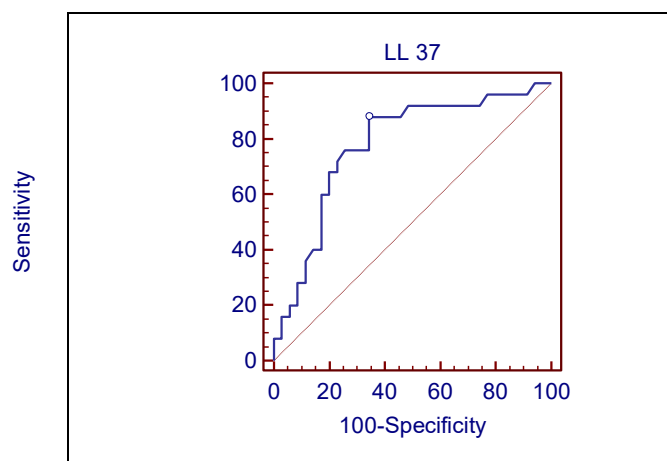


Рисунок 3. ROC-кривая соотношения чувствительности и специфичности при определении точки разделения между ХГП легкой и средней степени тяжести по концентрации кателицидина LL37 в содержимом пародонтальных карманов.

Площадь под ROC кривой составила  $0,778 \pm 0,063$  (доверительный интервал 0,655-0,901), что свидетельствовало о хорошем качестве разделения бинарных состояний. Доверительная вероятность отклонения ROC кривой от диагональной линии была высокой и составила  $p < 0,0001$  ( $z=4,42$ ). При повышении уровня кателицидина LL37 выше 17,2 пг/мл, риск развития ХГП средней степени тяжести возрастал в 2,6 раза.

Все изучаемые пародонтопатогенные бактерии, включенные в панель «Дентоскрин», с высокой частотой выявлялись в 1 и 2 группах. Межгрупповых различий не наблюдалось. Частота качественного обнаружения *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* была несколько выше по сравнению с другими возбудителями в спектре определяемых микроорганизмов. В двух группах имела место высокая частота встречаемости патогенных бактерий в концентрациях, превышающих клинически значимую.

Проведение корреляционного анализа позволило выявить, что все изучаемые биомаркеры в воспалительном экссудате имели статистически значимую прямую корреляционную связь с количеством пародонтопатогенных бактерий. Однако, с большей теснотой бактериальная обсемененность была связана с концентрацией кателицидина LL37 ( $R=0,913$ ;  $p<0,001$ ) и HIF-1 $\alpha$  ( $R=0,728$ ;  $p=0,004$ ).

Если связь количественных показателей, характеризующих микробиоценоз полости рта с концентрацией антимикробных пептидов, факт доказанный, то относительно HIF-1 $\alpha$  - факт новый. Объяснение установленной корреляционной связи между количеством пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов и HIF-1 $\alpha$  при ХГП видится в следующем. Местная гипоксия при ХГП повышает выживаемость анаэробных грамотрицательных патогенов и еще больше снижает кислородное напряжение в тканях в непосредственной близости от колоний. Клеточные линии мышей, лишённые гена *HIF1A*, имели ослабленные иммунные эффекторные молекулы и сниженную бактерицидную способность биологических жидкостей (S.P. Colgan, C.T. Taylor, 2010; P.P. Costa, G.L. Trevisan, G.O. Macedo, D.V. Palioto, 2010). Таким образом, способность адаптироваться к снижению тканевого напряжения кислорода через синтез и стабилизацию HIF-1 $\alpha$ , поддерживает контроль за иммунными клетками во всех тканевых средах, необходимый для успешной ликвидации патогенов.

Использование кофермента НАД в комплексном лечении пациентов с ХГП сопровождалось улучшением гигиенического состояния полости рта в течение 3 мес. от начала терапии. При стандартной терапии ХГП во 2 группе период выраженного снижения ИГ отмечался в более сжатые сроки с формированием тенденции к повышению ИГ уже через 3 месяца наблюдения. Снижение индекса РМА относительно исходного уровня в 1 группе наблюдалось в большей мере по сравнению со 2 группой. Следовательно, при использовании НАД воспалительные изменения десны в 1 группе купировались лучше, особенно при легкой степени тяжести ХГП.

Через 14 дней в 1 группе глубина ПК по сравнению со 2 группой была меньше ( $3,7\pm 0,17$  мм против  $4,2\pm 0,12$  мм) ( $p<0,05$ ) при средней степени тяжести ХГП. Аналогичная ситуация отмечалась и через 3 мес. наблюдения. Через 6 мес. глубина ПК была меньше в 1 группе по сравнению со 2 группой как при легкой ( $1,6\pm 0,05$  мм против  $2,2\pm 0,09$  мм), так и при средней степени тяжести ( $2,3\pm 0,04$  мм против  $3,0\pm 0,08$  мм). По сравнению с исходным уровнем глубина ПК сокращалась с более выраженным градиентом в 1 группе по сравнению со 2 группой. Следовательно, ограничение деструкции мягких и твердых тканей пародонта с сокращением глубины ПК было более эффективным в 1 группе.

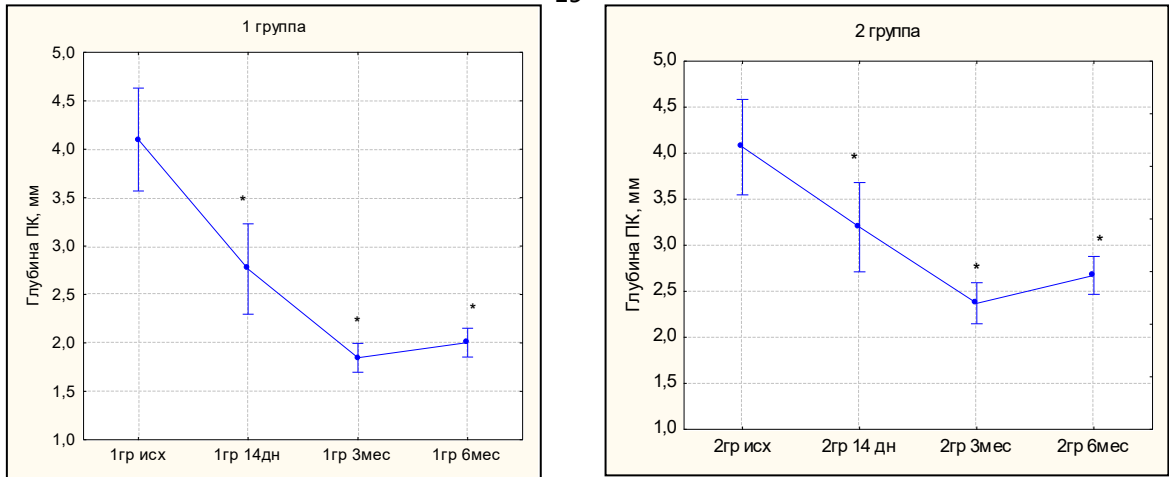


Рисунок 4. Динамика глубины ПК у пациентов 1 и 2 групп с различной тактикой лечения ХГП. \* - статистически значимые отклонения от исходного уровня при  $p < 0,05$ .

Анализ динамики пародонтального индекса у пациентов 1 и 2 групп позволил установить эффективный отдаленный эффект лечения в 1 группе: как при легкой, так и при средней степени тяжести ХГП у пациентов 1 группы PI был статистически значимо ниже ( $p < 0,05$ ), чем во 2 группе. В 1 группе во все периоды наблюдения PI был ниже исходного уровня, а во 2 группе статистически значимое снижение установлено только через 14 дней.

Итак, в работе была доказана клиническая эффективность дополнительного применения НАД к стандартной терапии ХГП. При использовании НАД с большей эффективностью купировались воспалительные изменения десны, улучшалось гигиеническое состояние полости рта, сокращался объем остеодеструкции – ограничивались ПК по глубине, снижался пародонтальный индекс.

НАД представляет собой коэнзим 1, биологически активную форму никотинамидадениндинуклеотида в восстановленной форме после присоединения атома водорода.

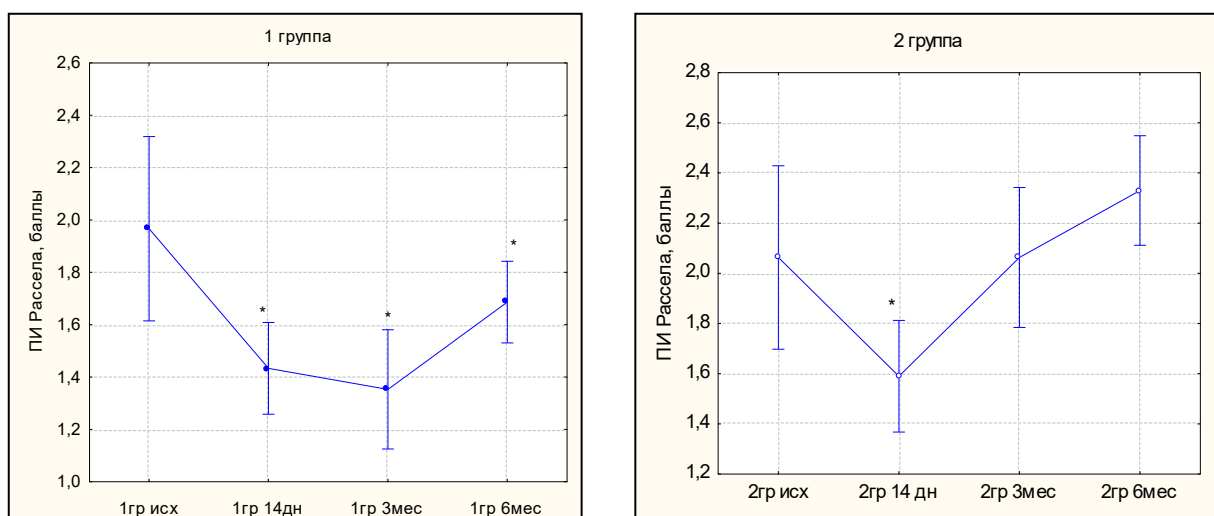


Рисунок 5. Динамика PI у пациентов 1 и 2 групп с различной тактикой лечения ХГП. \* - статистически значимые отклонения от исходного уровня при  $p < 0,05$ .

НАД играет важную роль в получении клеточной энергии при метаболизме глюкозы и липидов. Поэтому чем больше НАД в клетках, тем больше энергии она вырабатывает с оптимальной эффективностью. Под воздействием НАД в виде дентального геля заживление ран и реэпителизация в десневой ткани происходит с большей скоростью (М.Е. Bianchi, 2007; А.А. Mamalis, D.L. Cochran, 2011). НАД доставляется в эпителиальные клетки ротовой полости в лецитиновых липосомах и обладает хорошим восстановительным потенциалом в сравнении с препаратами родственными групп (С. Yuan, P. Wang, L. Zhu, W.L. Dissanayakaetal, 2015). Из положительных свойств, НАД обладает антиоксидантными свойствами, нейтрализуя свободные радикалы, стимулирует синтез оксида азота NO, обладающего дезагрегантным и сосудорасширяющим действием, что несомненно оптимизирует кровообращение органов и тканей.

В 1 группе по сравнению со 2 группой дополнительное терапевтическое воздействие НАД привело к снижению синтеза и накоплению ИЛ-1 $\alpha$  в воспалительном экссудате у пациентов со средней тяжестью заболевания через 3 мес. и у больных с легкой и средней степенью тяжести ХГП через 6 мес. наблюдения. В 1 группе в динамике наблюдения по сравнению с исходным уровнем наблюдалось последовательное снижение концентрации ИЛ-1 $\alpha$  в содержимом пародонтальных карманов: исходно  $189,3 \pm 19,2$  пг/мкл, через 3 мес.  $124,3 \pm 7,5$  пг/мкл, через 6 мес.  $115,1 \pm 6,6$  пг/мкл. Между тем, во 2 группе снижение концентрации ИЛ-1 $\alpha$  наблюдалось только через 3 мес. (с  $203,6 \pm 20,2$  пг/мкл до  $146,7 \pm 11,2$  пг/мкл), а через 6 мес. концентрация ИЛ-1 $\alpha$  повышалась до  $173,0 \pm 14,4$  пг/мкл.

В 1 группе по сравнению со 2 группой лечение НАД привело к снижению концентрации ИЛ-6 в воспалительном экссудате у пациентов только со средней тяжестью заболевания через 3 мес. и у больных с легкой и средней степенью тяжести ХГП через 6 мес. Наблюдения.

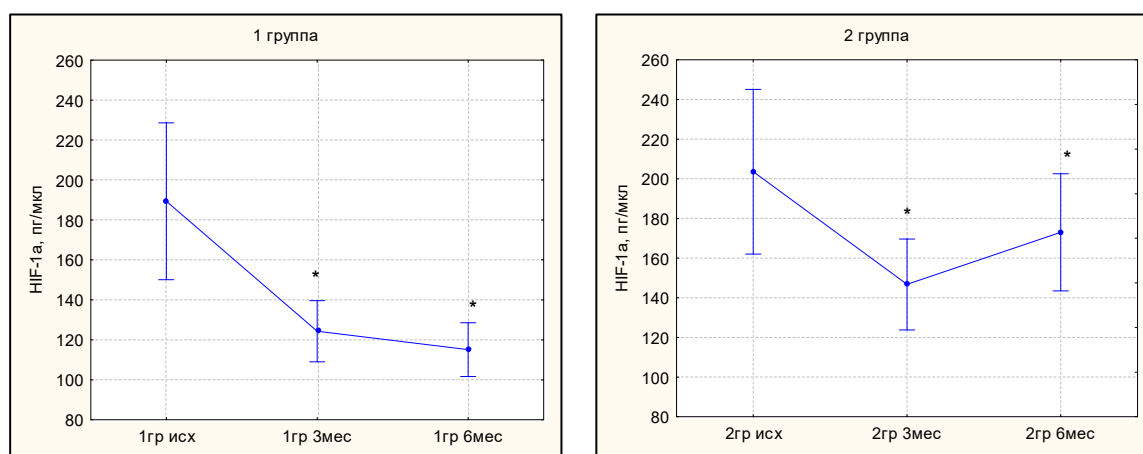


Рисунок 6. Динамика концентрации ИЛ-1 $\alpha$  в содержимом пародонтальных карманов у пациентов 1 и 2 групп с различной тактикой лечения ХГП. \* - статистически значимые отклонения от исходного уровня при  $p < 0,05$ .

После лечения у пациентов 1 и 2 групп различия концентрации кателицидина LL37 в содержимом пародонтальных карманов сформировались только через 6 мес. наблюдения. У пациентов 1 группы через 6 мес. как при легкой, так и при средней тяжести заболевания содержание кателицидина LL37 в воспалительном экссудате было ниже ( $p < 0,05$ ) по сравнению со 2 группой.

Эпителиальные клетки слизистой оболочки полости рта и лейкоциты для производства АТФ преимущественно используют гликолиз, что позволяет компенсировать снижение окислительного обмена при локальной гипоксии (S. Frede, C. Stockmann, P. Freitag, J. Fandrey, 2006). HIF-1 $\alpha$  способствует активации гликолитических ферментов и повышению доступности АТФ (R.D. Braun, J.L. Lanzen, S.A. Snyder, M.W. Dewhirst, 2001). Применение дентального геля с коферментом НАД предотвращает истощение АТФ, что важно для протекания защитных иммунных реакций. Использование субстратной формы АТФ сопровождается снижением гипоксии в тканях, а следовательно, снижением уровня HIF-1 $\alpha$ . Кроме того, при снижении уровня HIF-1 $\alpha$  происходило сочетанное ограничение синтеза ИЛ-6 и кателицидина LL37, что по совокупности свидетельствовало о снижении воспалительного повреждения тканей пародонта.

Таким образом, дополнительное назначение дентального геля с коферментом НАД в составе комплексного лечения ХГП сопровождалось повышением клинической эффективности терапии за счет активации гипоксия-зависимых и иммунорегуляторных защитных механизмов, ограничения воспаления и деструкции тканей пародонта.

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом при средней степени тяжести заболевания в отличие от легкой степени поражения пародонта наиболее выраженное повышение ( $p < 0,05$ ) концентрации в экссудате пародонтальных карманов отмечается для HIF-1 $\alpha$  (в 3,15 раз) и кателицидина LL37 (в 2,9 раз). При легкой степени тяжести хронического генерализованного пародонтита концентрация гипоксия-зависимого фактора -1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) в десневой жидкости не отличается от контрольного уровня у здоровых лиц. Концентрация ИЛ-6 в содержимом пародонтальных карманов значительно превышает ( $p < 0,05$ ) контрольное значение, как при легкой (в 11,4 раз), так и при средней (в 13,6 раз) степени тяжести заболевания. Таким образом, диагностическая информативность определения клинико-лабораторных показателей в экссудате пародонтальных карманов определено и установлено, что при мониторинге степени патологии пародонта выше для гипоксия-зависимого фактора -1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) и кателицидина LL37.

2. С характеристиками микробиоценоза содержимого пародонтального кармана тесно связаны колебания концентрации в экссудате кателицидина LL37 и гипоксия-зависимого фактора  $-1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ). Наиболее выраженная тесная корреляционная зависимость с содержанием пародонтопатогенных бактерий в пародонтальных карманах у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом установлено для концентрации кателицидина LL37 ( $R=0,913$ ;  $p<0,001$ ) и гипоксия-зависимого фактора  $-1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ) ( $R=0,728$ ;  $p=0,004$ ), для концентрации ИЛ-6 связь значимая, но умеренная ( $R=0,497$ ;  $p=0,02$ ).

3. Использование дентального геля с коферментом НАД в комплексном лечении пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом легкой и средней степени тяжести по сравнению со стандартной терапией сопровождается улучшением гигиенического состояния полости рта в течение 3 мес. от начала терапии, более эффективным купированием воспалительных изменений десны со снижением индекса РМА, ограничением деструкции мягких и твердых тканей пародонта с сокращением глубины ПК и снижением пародонтального индекса, начиная с 14 дня наблюдения.

4. Дополнительное терапевтическое воздействие кофермента НАД приводит к более выраженному снижению синтеза и накоплению гипоксия-зависимого фактора  $-1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ) и ИЛ-6 в воспалительном экссудате у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом со средней тяжестью заболевания через 3 мес. После лечения у пациентов 1 и 2 групп различия концентрации кателицидина LL37 в содержимом пародонтальных карманов формируются только через 6 мес. наблюдения. Дополнительное терапевтическое воздействие кофермента НАД сопровождается наиболее эффективным и последовательным снижением в экссудате пародонтальных карманов гипоксия-зависимого фактора  $-1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ).

5. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом легкой и средней степени тяжести при повышении уровня гипоксия-зависимого фактора  $-1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ) в содержимом пародонтальных карманов выше 103 пг/мкл, риск развития остеодеструкции возрастает в 4,2 раза ( $p<0,05$ ), при повышении концентрации кателицидина LL37 более 17,2 пг/мл – в 2,6 раза ( $p<0,05$ ), что требует дополнительного курсового использования дентального геля с коферментом НАД в комплексе стандартных мер лечения для повышения клинической эффективности терапии. Следовательно, данный алгоритм лечения может быть применён, как один из эффективных методов лечения хронического генерализованного пародонтита.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При лечении пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести на фоне аллергии на компоненты стандартных противовоспалительных средств, к антибиотикам и антимикробным средствам, дисбактериоза кишечника III-IV степени для повышения клинической эффективности лечения рекомендуется дополнительно к стандартной терапии обрабатывать пародонтальные карманы дентальным гелем с коферментом никотинамидадениндинуклеотид в течение 10 дней 1 раз в день с экспозицией по 20 мин.

2. Для оценки прогноза развития среднетяжелой степени хронического генерализованного пародонтита у пациентов при легкой степени поражения пародонта целесообразно рекомендовать в содержимом зубо-десневого желобка определять концентрацию гипоксия-зависимого фактора  $-1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ) иммуноферментным методом. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом при легкой степени поражения пародонта повышение концентрации гипоксия-зависимого фактора  $-1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ) в экссудате пародонтальных карманов более  $10^3$  пг/мкл свидетельствует о высоком риске дальнейшего развития среднетяжелой формы заболевания с диагностической чувствительностью 87,1% и специфичностью 79,3%.

3. При высоком риске развития среднетяжелой степени хронического генерализованного пародонтита рекомендуется к стандартному лечению дополнительно назначать курсовое применение дентального геля с коферментом никотинамидадениндинуклеотидом в течение 10 дней 1 раз в день с экспозицией по 20 мин. при обработке пародонтальных карманов, несмотря на легкую тяжесть заболевания.

4. Дентальный гель с коферментом НАД может быть рекомендован как лечебный препарат при хроническом генерализованном пародонтите средней степени тяжести и профилактическое средство для предотвращения среднетяжелой формы заболевания ввиду активации факторов врожденной иммунной защиты полости рта за счет коррекции его гипоксия-зависимых механизмов.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Мустафаев, М.Ш. Комплексное лечение хронического пародонтита легкой и средней степени тяжести с использованием никотинаденин динуклеотид гидрида / М.Ш. Мустафаев, М.А. Амхадова, И.С. Амхадов, **А.А. Хамукова**, Э.Ш. Алескеров // **Медицинский алфавит**. -2020. -№12. -С.19-23.

2. Зорина, О.А. Особенности остеоиммунологических аспектов остеорезорбции при периимплантите, хроническом пародонтите и раке альвеолярного отростка и альвеолярной части челюстей / О.А. Зорина, М.А. Амхадова, **А.А. Хамукова**, Э.Ш. Алескеров, Г.А. Айрапетов, А.А. Демидова // **Стоматология**. -2020. -Т.99, №4. -С.27-32.

3. Зорина, О.А. Гипоксия-зависимый транскрипционный контроль активности деструктивных изменений пародонта воспалительного и злокачественного генеза / О.А. Зорина, М.А. Амхадова, З.М. Абаев, **А.А. Хамукова**, А.А. Демидова // **Стоматология**. -2020. -Т.99, №3. -С.32-36.

### Список сокращений и условных обозначений

АМП - антимикробные пептиды

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота

ИГ ОНІ-S – индекс гигиены по Грин-Вермиллиону

ИЛ - интерлейкин

ИЛ-6R – рецепторы к интерлейкину-6

ИФА – иммуноферментный анализ

КОЕ - колониеобразующие единицы

НАД - никотинамидадениндинуклеотид

НАДФН-оксидаза – никотинамидадениндинуклеотида фосфат-оксидаза

ПЦР - полимеразная цепная реакция

ФНО- $\alpha$  - фактор некроза опухоли- $\alpha$

ХГП - хронический генерализованный пародонтит

HIF - гипоксия-зависимый фактор

NF- $\kappa$ B – транскрипционный ядерный фактор каппа легкой цепи-энхансер активированных В-клеток

PI - пародонтальный индекс

PMA - папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс

RANKL - рецепторный активатор ядерного фактор- $\kappa$ B-лиганд

TFF – трефоиловые пептиды

VEGF - фактор роста эндотелия сосудов

O<sub>2</sub> – кислород

pO<sub>2</sub> - парциальное напряжение кислорода



---

Подписано в печать: 16.11. 2021  
Формат А5  
Бумага офсетная. Печать цифровая.  
Тираж 100 Экз.  
Заказ №22015  
Типография ООО "Цифровичок"  
117149, г. Москва, ул. Азовская, д. 13