

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ГРИГОРОВИЧ ЭЛЬМИРА ШАДИДОВНА

ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫЙ ПАРОДОНТИТ: КЛИНИКО-
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
ГЕТЕРОГЕННОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ОБОСНОВАНИЕ ПРОГНОЗА И
ПЕРСОНИФИКАЦИЯ ТЕРАПИИ

14.01.14-стоматология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор

Недосеко Владимир Борисович

доктор медицинских наук, профессор

Кононов Алексей Владимирович

Омск -2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА РАЗВИТИЕ, ТЕЧЕНИЕ, ПРОЦЕССЫ РЕГУЛЯЦИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА; ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ ПАРОДОНТИТА (обзор литературы).....	13
1.1 Распространенность различных форм и развитие воспалительных заболеваний пародонта.....	13
1.2 Цитокиновая регуляция и процессы прогрессирования хронического воспаления в тканях пародонта, полиморфизм генов воспалительных цитокинов.....	28
1.3 Прогнозирование течения хронического генерализованного пародонтита.....	38
ГЛАВА 2 ОРГАНИЗАЦИЯ, МЕТОДЫ И ИСХОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	56
2.1 Организация исследования.....	56
2.2 Методы исследования.....	60
2.3 Статистические методы исследования.....	66
2.4 Исходная характеристика участников исследования.....	68
ГЛАВА 3 КЛИНИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА, ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ИХ СИСТЕМНАЯ ПРОДУКЦИЯ У БОЛЬНЫХ; ИЗМЕНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА У БОЛЬНЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ БАЗОВОГО КУРСА ТЕРАПИИ.....	84
3.1 Результаты клинического обследования группы больных пародонтитом, особенности клинических проявлений пародонтита в	84

группах обследованных больных в зависимости от генетических характеристик пациентов.....	
3.2 Индексная оценка состояния тканей пародонта у больных с различной степенью тяжести пародонтита на фоне базового курса терапии.....	103
3.3 Анализ результатов проведения базового курса терапии у больных с различным клиническим течением пародонтита.....	117
ГЛАВА 4 АССОЦИАЦИЯ ВАРИАНТОВ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ И ОСОБЕННОСТЕЙ ГИСТОПАТОЛОГИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДЕСНЫ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ; АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ.....	121
4.1 Характеристика гистологической картины биоптатов слизистой оболочки десны больных хроническим пародонтитом до инициации терапии.....	121
4.2 Иммунофенотип клеток воспалительного инфильтрата в биоптатах десны больных пародонтитом до инициации терапии.....	134
4.3 Изменения гистологической картины в биоптатах десны больных пародонтитом под влиянием базовой терапии.....	149
4.4 Особенности динамики морфологических признаков воспаления под влиянием базового курса терапии в биоптатах слизистой оболочки десны больных с различным течением пародонтита.....	157
4.5 Оценка иммуногистохимических маркеров и особенности их динамики в биоптатах десны больных с различным течением пародонтита под влиянием базового курса терапии.....	163
4.6 Морфометрические показатели обновления клеточной популяции в эпителии слизистой оболочки десны под влиянием базового курса терапии у лиц с различным течением пародонтита.....	171

4.7 Гистологическое и иммуногистохимическое исследования биоптатов слизистой оболочки десны в зависимости от полиморфизма генов воспалительных цитокинов.....	176
4.8 Проспективное исследование больных пародонтитом после базового лечения.....	187
4.9 морфологическая характеристика биоптатов десны больных пародонтитом через 2 и через 12 месяцев после базового курса терапии.....	192
4.10 Клинико-морфологическая характеристика течения хронического генерализованного пародонтита после базового курса терапии и генетический полиморфизм генов цитокинов.....	198
4.11 Прогностические факторы неблагоприятного течения пародонтита после курса базовой терапии (персистенции воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны).....	202
ГЛАВА 5	
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	224
5.1 клинико-морфологические и молекулярно-генетические основы гетерогенности хронического пародонтита.....	224
5.2 Предикция варианта течения хронического генерализованного пародонтита и определения тактики курации пациентов (персонификация базовой терапии).....	253
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	266
ВЫВОДЫ.....	268
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	271
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	273
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	325

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Частота поражения пародонта во всем мире и у населения России сохраняется на высоком уровне (более 82%), сопровождается потерей зубов у 50% пациентов, не достигших 40 лет, способствует развитию и усугубляет течение общесоматических заболеваний, определяя хронический генерализованный пародонтит, как актуальную медицинскую и социальную проблему [10, 17, 19, 44, 45, 72, 120, 138] Пародонтопатогенные микроорганизмы, входящих в структуру зубной биопленки, вызывают весь спектр состояний, связанных с инфекцией – от практически бессимптомного течения до развития выраженных клинических проявлений, сопровождающихся общей реакцией организма [47, 54, 83, 117, 255, 361, 494].

Терапевтическое воздействие на микрофлору рта и пародонтальных карманов не во всех случаях приводит к полному устранению воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны, сохранение в компартментах слизистой оболочки десны инфильтрации иммунокомпетентными клетками после эрадикации инфекта не сопровождается клиническими проявлениями [40, 41, 65, 97, 103, 124]. Поэтому даже на фоне лечения, риск рецидива пародонтита сохраняется, а в ряде случаев, происходит трансформация в более тяжелую степень заболевания [13, 21, 57, 97, 109, 119, 120, 381].

На сегодняшний день имеются данные о том, что реактивные изменения тканей определяются не только свойствами бактерий, инициирующих болезнь, а во многом генетическими особенностями инфицированного человека и являются только частью общебиологической проблемы реактивности организма. Так, в ряде исследований показано, что у пациентов с похожими клиническими проявлениями болезни и схожим поддесневым бактериальным профилем имеются существенные различия в характере иммунного ответа [181, 254, 258, 479].

Функциональный полиморфизм генов, кодирующих воспалительные цитокины, влияет на уровень иммунного и воспалительного ответов [3, 68, 93, 97, 111, 243, 301, 323, 379]. Хотя ряд исследований зависимости развития и течения пародонтита от генетических особенностей пациентов имеют неоднозначные результаты, признано, что полиморфизм кластеров кодирующих *IL-1 β* , *TNF α* , опосредующих врожденные иммунные реакции и *IL-4* ключевой цитокин адаптивного иммунитета, влияют на прогрессирование пародонтита

Достижения в области молекулярной и клеточной биологии стали основой и позволили сформулировать концепцию персонифицированной медицины. По прогнозам ученых многих стран, персонифицированная медицина позволит значительно повысить качество профилактики, диагностики и лечения больных [8, 9, 87, 88, 274].

Возможность выделения групп больных на основании изучения их генетического профиля, ответственного за характер протекания защитных реакций, для которых прогноз болезни неблагоприятен, особенно, при начальных признаках заболевания открывает полезные перспективы. Поиск путей реализации персонифицированных подходов при диагностике, прогнозировании и лечении больных пародонтитом является актуальной современной задачей и в рамках стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации до 2025 года, и мировой тенденции развития науки.

Цель исследования

Установить взаимосвязь клинических проявлений, морфологических характеристик (иммунофенотип клеток) воспалительного инфильтрата в тканях десны и полиморфизма генов воспалительных цитокинов у больных хроническим генерализованным пародонтитом для обоснования прогноза и персонификации терапии.

Задачи исследования

1. Оценить клинические и лабораторные показатели состояния органов и тканей рта у больных хроническим генерализованным пародонтитом и определить ассоциации клинических вариантов течения пародонтита с носительством полиморфных аллелей генов воспалительных цитокинов (*IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4*) и системным уровнем их продукции в сыворотке крови пациентов в период активных клинических проявлений.

2. Показать особенности структурных нарушений в слизистой оболочке десны у больных пародонтитом с различным течением заболевания и выявить ассоциации с генетическим полиморфизмом генов воспалительных цитокинов *IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4*.

3. Охарактеризовать изменения клинических, лабораторных и морфологических показателей у больных хроническим генерализованным пародонтитом с различным течением заболевания под влиянием базовой терапии и в течение 12 месяцев после нее.

4. На основе ретроспективного анализа лабораторных и морфологических показателей состояния пародонта выделить предикторы персистенции воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны у больных хроническим генерализованным пародонтитом.

5. Разработать прогностические критерии характера течения хронического генерализованного пародонтита с учетом клинических данных пациента, морфологических характеристик клеток инфильтрата слизистой оболочки десны и генетической регуляции воспаления.

6. Создать алгоритм персонализации терапии больных хроническим генерализованным пародонтитом в зависимости от генетически обусловленного полиморфизма аллелей генов воспалительных цитокинов *IL-1 β* в позиции -511, +3953; *IL-1RN* во 2 интроне; *TNF α* в позиции -308; *IL-4* в 3 интроне.

Научная новизна исследования

На основании полученных данных о взаимосвязи структурных нарушений в тканях пародонта и носительстве полиморфных аллелей генов воспалительных цитокинов (*IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4*) создано новое направление в диагностике, прогнозировании и лечении воспалительных заболеваний пародонта

Обоснованы и предложены новые обозначения течения хронического генерализованного пародонтита: «агрессивное», «умеренно прогрессирующее» и «медленно прогрессирующее», которые обусловлены ассоциациями комбинаций полиморфных аллелей генов воспалительных цитокинов (*IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4*).

Показаны структурные основы хронического воспаления в тканях десны, которые определяют клинико – морфологические особенности каждого из выделенных вариантов течения хронического генерализованного пародонтита.

Сформулирована концепция о персистенции воспалительного инфильтрата в тканях десны, которая на морфологическом уровне определяется устойчивой кооперацией мононуклеарных клеток CD45RO Т лимфоцитов памяти, CD68 - макрофагов и CD8 цитотоксических Т лимфоцитов и реализуется в клинический вариант «агрессивного» течения хронического генерализованного пародонтита, определяет тактику терапии.

Предложен новый подход к диагностике и прогнозированию течения заболевания по показателям патоморфологических и молекулярно-генетических исследований. Методом дискриминантного анализа проведена проверка эмпирически установленного представления об ассоциации генетических особенностей с характеристикой клинического течения заболевания, что послужило основой для персонификации прогноза и базовой

терапии, применение которых позволяет повысить качество лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом.

Разработаны инструменты для реализации персонифицированного подхода в прогнозировании и лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом (программы для ЭВМ свидетельство о государственной регистрации № 2012613365 от 9.04.2012 года и № 2015616996 от 12 февраля 2015 года).

Теоретическая и практическая значимость исследования

Обоснована концепция генетического детерминирования интенсивности воспалительной реакции, персистенция воспаления в ответ на воздействие пародонтопатогенов, разработаны патоморфологические критерии прогноза по биоптатам десны течения хронического генерализованного пародонтита. На основании клинико-морфологических и молекулярно-генетических признаков разработана компьютерная программа для разделения больных хроническим генерализованным пародонтитом на группы с различным вариантом течения заболевания, прогнозом исхода заболевания и персонификации терапии.

Применение компьютерной программы для интеллектуальной поддержки принятия клинических решений персонифицирует базовую терапию больного хроническим генерализованным пародонтитом, решает альтернативы: удаление – условное сохранение зуба; удаление условно сохраненного зуба – хирургическое устранение пародонтального кармана; консервативное лечение пародонта – хирургическое устранение пародонтального кармана.

Апробация работы

Основные положения работы представлены на международных семинарах-выставках «Новые материалы, оборудование, технологии их применения в стоматологической практике Омск, 2006 - 2015 гг.»; на

юбилейной сессии, посвященной 85-летию ОмГМА, Омск 2006; на юбилейной сессии, посвященной 50-летию стоматологического факультета ОмГМА, Омск 2007 г.; на юбилейной конференции, посвященной 50-летию кафедры терапевтической стоматологии ОмГМА, Омск 2008 г.; на ежегодной научной конференции молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки России, члена-корреспондента РАМН, профессора А.С. Зиновьева, Омск 2008 г., на IV, VIII, IX Сибирских конгрессах «Стоматология и челюстно-лицевая хирургия» и Всероссийских симпозиумах «Новые технологии в стоматологии», Новосибирск, 2009 г, 2012 г., 2013; 2014 г.; на 27 - 29 Московских международных форумах, секция пародонтологии, Москва, 2010 - 2011 - 2012гг., Международном конгрессе «Стоматология большого Урала - 2013», II форум стоматологов Уральского Федерального Округа, II Всероссийском рабочем совещании по проблемам фундаментальной стоматологии с научной школой для молодежи 2014 г., г. Екатеринбург; на юбилейной сессии, посвященной 50-летию ДГМА 2015, г. Махачкала.

Внедрение результатов работы

Результаты исследования и выводы диссертации используются в учебном процессе на кафедрах патологической анатомии, терапевтической стоматологии и в курсах последипломного образования на кафедре стоматологии ПДО Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО Минздрава РФ) в лекционных курсах и на практических занятиях со студентами, врачами интернами, врачами ординаторами, врачами курсов повышения квалификации.

Результаты работы (программы для ЭВМ) используются в лечебной работе терапевтического пародонтологического отделения ГКСП№1 г. Омска, ГСП№4 г. Омска, стоматологической клиники ОмГМА, пародонтологического отделения ООО «Элита» города Омска, «Центродент» г. Калининград.

Научные положения, выносимые на защиту

1. Гетерогенность клинической картины хронического генерализованного пародонтита может быть ранжирована по 3 вариантам течения: «агрессивное», «умеренно прогрессирующее» и «медленно прогрессирующее». Перечисленные варианты течения болезни ассоциированы с определенными комбинациями аллельных полиморфизмов генов цитокинов и рецепторов к ним, регулирующих интенсивность и персистенцию воспалительного ответа в тканях пародонта: *IL-1 β* ; *IL-1RN*; *TNF α* ; *IL-4*.

2. У больных хроническим генерализованным пародонтитом интенсивность воспалительной инфильтрации мононуклеарными фагоцитами, лимфоцитами различных субпопуляций и нейтрофильными лейкоцитами определяется носительством полиморфных аллелей генов цитокинов (*C-511T*), (*C+3953T*) гена *IL-1 β* , (*G-308A*) гена *TNF α* и генотипом *3R/3R* гена *IL-4* (*VNTR интрон 3*) и/или их комбинаций. Основой «агрессивного» течения хронического генерализованного пародонтита является персистенция воспалительного инфильтрата в тканях десны вследствие генетически заданного высокого уровня воспалительного ответа («воспалительный» генотип), к которому приводит особое сочетание у одного пациента нескольких полиморфных аллелей генов воспалительных цитокинов.

3. Катамнез больных хроническим генерализованным пародонтитом свидетельствует, что отдельно взятый признак (клинические характеристики, фенотип клеток воспалительного инфильтрата, выраженность воспалительного инфильтрата, «воспалительный» генотип) не может быть использован в качестве прогностического критерия самостоятельно. Однако система валидных признаков (предикторов) позволяет надежно прогнозировать развитие варианта течения болезни и персонафицировать базовую терапию.

Публикации

Результаты исследования отражены в 27 научных статьях, из них в журналах по перечню ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации 20, в моноавторстве 3 работы; зарегистрированы 2 программы для ЭВМ (Свидетельство о государственной регистрации № 2012613365 от 9.04.2012 года и № 2015616996 от 12 февраля 2015 года).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 327 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 87 таблицами, 71 рисунком. Библиографический указатель содержит 483 источника, в том числе 138 отечественных и 345 зарубежных.

Работа выполнена в соответствии с планом НИР ГБОУ ВПО ОмГМУ Мнздрава России, номер государственной регистрации 0120.060 1309. Тема диссертации утверждена Ученым советом при Омской государственной медицинской академии, протокол № 10 от 21 декабря 2006 г.

Личный вклад соискателя

Автором лично выполнена курация 154 пациентов от первичного осмотра, включая все этапы лечения до катamnестического наблюдения и 150 условно здоровых добровольцев. Лично обработан весь молекулярно-генетический материал, материал биопсийного исследования, выполнены морфологические исследования, статистический анализ. Разрабатывала компьютерные программы с инженером-программистом.

ГЛАВА 1

СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА РАЗВИТИЕ, ТЕЧЕНИЕ, ПРОЦЕССЫ РЕГУЛЯЦИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА; ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ ПАРОДОНТИТА (обзор литературы)

1.1. Распространенность различных форм и развитие воспалительных заболеваний пародонта

В настоящее время накоплен значительный фактический материал по данным многочисленных эпидемиологических исследований, наиболее изучаемыми и особенно противоречивыми являются исследования в области эпидемиологии хронического пародонтита у взрослого населения. Еще с 1977 года при проведении исследований распространенности пародонтита и потребности в определенных лечебных мероприятиях, как базовый, используется индекс CPITN, многие исследователи едины во мнении, что при использовании подобного подхода эпидемиологические исследования стали более воспроизводимыми. По оценке экспертов ВОЗ, проводивших исследования в 60 странах мира деструктивные поражения с образованием пародонтальных карманов были обнаружены у 5 – 20% лиц старше 40 лет. Среди общих закономерностей отмечено повышение распространенности деструкции опорных тканей пародонта с возрастом [219, 269, 412]. Ряд исследователей сообщает, что распространенность деструктивного поражения пародонта выше среди мужчин, и на 45% большей тяжести, чем у женщин аналогичного возраста. По некоторым данным у мужчин деструкция начинается в среднем в 35 лет, когда как у женщин – в 45 лет [218, 380]. В другом исследовании показано, что только у 2,8% обследованных признаков поражения пародонта не было, в 9% случаев определялась кровоточивость десен, у 44% лиц, принявших участие в исследовании, были обнаружены пародонтальные карманы более 5 мм, у 16% - более 6 мм, при этом не

определялось зависимости тяжести и срока начала деструктивных изменений в пародонте от пола обследованных людей [30,60]. На территории России в 46 регионах после обследования более 45 тысяч человек разного возраста и пола и были опубликованы следующие данные: в группе лиц от 35 лет до 44 лет признаки здорового пародонта были выявлены в 13,8% случаев, а в группе обследованных, которым было больше 65 лет, признаки здорового пародонта определялись только в 2,2% случаев [100, 132, 138]. На данной популяции не удалось установить существенных различий в степени тяжести поражения пародонта и распространенности пародонтита между мужчинами и женщинами [60]. Результаты многих исследований по распространенности различных форм деструктивных поражений пародонта в США, Латинской Америке, Европе, Азии, Африке и на территории России показали, что тяжелые поражения пародонта (код 4 CPITN и, соответственно, необходимость комплексной терапии III) были диагностированы в 10 – 15% случаев, при этом легкие поражения пародонта оказались широко распространены. Если учесть специфику индекса CPITN, то обнаружение кода 4 еще не означает, что имеется генерализованное поражение пародонта, но глубокий пародонтальный карман у одного зуба, в одном или нескольких участках, может явиться свидетельством предрасположенности человека к развитию генерализованного процесса. Очевидно, что выбор критерия для оценки деструкции решающим образом влияет на выводы исследователей. Так было продемонстрировано, что в зависимости от выбора критерия деструкции (например - глубины пародонтального кармана - 4 мм или глубины пародонтального кармана - 7 мм) в исследованиях изменялись результаты распространенности деструкции пародонта и зависимости от возраста и пола обследованных лиц [60,81]. В случае, когда за критерий деструкции была принята глубину пародонтального зондирования 4 мм, у лиц старше 40 лет распространенность процесса оказалась высокой и линейно зависела от возраста. При принятии за критерий деструкции - глубины пародонтального кармана 7 мм, значительно снижалась распространенность патологии и

отсутствовала статистически значимая связь этого параметра с возрастом и полом [60]. Как правило, в масштабных эпидемиологических исследованиях не удастся оценить влияние на прогрессирование деструкции пародонта сопутствующих заболеваний, особенно, в старшем возрасте. Показано повышение чувствительности к бактериальным патогенам с увеличением возраста обследованных людей [192, 457].

Все известные исследования, проводимые на территории России убедительно показали, что Россия относится к странам с высокой распространенностью болезней пародонта [12, 132, 138]. По этим данным нуждаемость населения в различных видах пародонтологической помощи превышает 80%, а по анализу обращаемости за данными видами помощи - 65% пациентов имеют тяжелую степень поражения пародонта и только в 5% случаев изменения в тканях пародонта соответствует начальной стадии заболевания. Позднее обращение за квалифицированной стоматологической помощью приводит к потере зубов у 50% взрослых пациентов до 40 лет, от 40 до 65 лет пациенты могут терять, в среднем, до 20 зубов [81]. Ранняя потеря зубов приводит к формированию зубочелюстных деформаций, травматической окклюзии и усугубляет воспалительно-деструктивные изменения пародонта. У пациентов отмечается психоэмоциональная неустойчивость, часто страдает секреторно-сократительная функция желудочно-кишечного тракта, сопутствуют эндокринные и сердечно-сосудистые расстройства [64, 99].

Таким образом, по мнению многих зарубежных и российских ученых, принимавших участие в широкомасштабных эпидемиологических исследованиях, разные нозологические формы воспалительных поражений пародонта определяют их как наиболее распространенные болезни человека. Отмечено, что тяжелое поражение пародонта выявляется в 5 – 20% наблюдений; в 25 – 45% случаев определяется поражение средней тяжести, и только в 2 – 10% наблюдений ткани пародонта пациентов являются

интактными. Так, в возрастной группе 35 – 44 года распространенность патологии пародонта превышает 90%. Вместе с поражениями твердых тканей зубов представляются распространенной патологией среди населения России и, кроме медицинской, имеют высокую социальную значимость. Исследования А.И. Грудянова [43] показали, что признаки воспаления пародонта наблюдаются уже у школьников первых классов. Средние показатели частоты гингивита у детей 7-летнего возраста колеблются от 12 до 20%. Хронический пародонтит от 25 до 40% в возрасте до 35 лет и от 80 до 90% — после 40 лет. Распространенность поражения пародонта у людей пожилого возраста составляет 100% [18, 31, 100, 133].

В развитии и хронизации воспаления в тканях пародонта играют роль различные экзогенные и эндогенные факторы, что сопровождается сложными реакциями со стороны большинства систем организма. Принято условно разделять эти факторы на общие и местные [30].

Ряд исследователей, отводящих ведущую роль в этиологии пародонтита местным факторам, начиная с 60-х годов XX века, активно изучали микрофлору зубного налета. В одном из экспериментальных исследований (Н. Лое с соавторами) была установлена прямая взаимосвязь между формированием зубной бляшки и развитием гингивита у лиц со здоровым пародонтом [382]. Необходимым условием обоснования гипотезы инфекционной этиологии каких – либо заболеваний является соответствие основополагающим постулатам Коха – Пастера (1884 год). Для инфекций, связанных с микрофлорой полости рта постулаты Коха – Пастера были модифицированы Socransky S., и в настоящее время содержат следующие критерии: 1 – патоген ассоциируется с локализацией заболевания и отсутствует на здоровых участках или при других формах заболевания; 2 – исключение патогена приводит к выздоровлению; 3 – имеет место неадекватный клеточный или гуморальный иммунный ответ на возможный патоген при одновременной нормальной реакции на другие микроорганизмы;

4 – эксперименты на животных могут служить относительным основанием для разработки практических рекомендаций; 5 – необходимо подтверждение факторов вирулентности.

Благодаря микробиологическим исследованиям в настоящее время выделено более 550 различных бактериальных таксонов, способных к колонизации зубной поверхности и поверхности слизистой оболочки полости рта. С появлением методов молекулярной диагностики, ученым удалось охарактеризовать микробное сообщество полости рта, среди которых 50-60% микроорганизмов относятся к трудно культивируемым видам, считается доказанным участие грибов и вирусов в данном сообществе, и даже допускается возможность наличия еще не идентифицированных некультивируемых патогенных микроорганизмов. Исходя из критериев, предложенных Socransky S. идентифицированы пародонтопатогены, имеющие выраженную ассоциацию с пародонтитом: *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; пародонтопатогены, имеющие умеренную ассоциацию с пародонтитом: *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium* spp., *Eubacterium* spp., β – гемолизирующие стрептококки [354].

Выделяют три типа инфекции пародонта: 1 – эндогенная/ экзогенная инфекция бактериями, которые относятся к нормальной флоре кожи, носа, полости рта, кишечному и мочеполовому трактам (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*); 2 – эндогенная/ оппортунистическая инфекция, возникающая в системно или местно ослабленном организме (*Prevotella intermedia*, *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus micros*, *Eikenella corrodens*, *Treponema denticola*, *Candida* spp.) и 3 – экзогенная/ суперинфекция бактериями, в норме, не встречающимися в полости рта (*Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Candida* spp.) [30, 81]. Локализуясь в зубном

налете, колонии микроорганизмов образуют собой биологическую пленку. Известно, что в природе бактерии формируют биопленку на всех доступных поверхностях, тем самым значительно повышая свою устойчивость к воздействию окружающей среды [22, 39, 79, 224, 260]. В 1994 году Suci P.A. продемонстрировал повышенную устойчивость *Pseudomonas aeruginosa* к действию антимикробных веществ, при условии их роста в составе биопленки. Проникновение ципрофлоксацина внутрь биопленки заняло 21 минуту, тогда как внутрь одиночной клетки данный препарат проникал 40 секунд. Donlan R. M. показал, что рост микроорганизмов в составе биопленки происходит неодинаковыми темпами. В глубине биопленки бактерии растут медленнее, чем на периферии, создается градиент концентраций активных форм кислорода, выделяемых клетками – фагоцитами, что позволяет ряду клеток благополучно уклониться от повреждающего действия защитных антимикробных агентов. Зубная бляшка является одним из наиболее хорошо изученных мультивидовых микробных сообществ. В своих работах ряд авторов использовали её в качестве комплексной модели экосистемы для выявления закономерностей формирования биопленки на поверхности зубов [313]. В настоящее время представления о смешанной инфекции, вызывающей воспаление пародонта, являются наиболее традиционными после того, как были отвергнуты представления о специфическом патогене для пародонтита.

Колонизация полости рта бактериями далеко не до конца исследованный процесс. Факультативная флора полости рта появляется в первые 6 - 10 часов жизни новорожденного и прогрессивно усложняется за счет штаммов стрептококков, стафилококков, актиномицетов, лактобактерий и некоторых других видов до периода полового созревания и при этом преобладающими остаются факультативные формы, а анаэробы представлены в малой степени [60, 167]. В период полового созревания происходит изменение флоры, и формируются предпосылки для образования зубных бляшек за счет механизма адгезии на поверхностях зубов и десен, что сопровождается адаптацией

организма к присутствию новых видов бактерий [291]. Данный период сопровождается максимальными проявлениями гингивита по данным различных эпидемиологических исследований. По данным пространственно – временная модель бактериальной колонизации выглядит следующим образом: в первые 2 – 4 часа после тщательного очищения поверхности зуба до 90% колонизовавших зуб микробов были представлены стрептококками и актиномицетами. *Streptococcus mutans* участвует в формировании налета и бляшки на любых поверхностях. К микроорганизмам, участвующим в колонизации поверхностей зубов в первые двое суток после чистки, относят *Actinomyces*, *Carnocytophaga*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Veillonella*, которые распознают специфические рецепторы пелликулы и соединяются с ними с помощью адгезинов, создавая платформу для следующего уровня микроорганизмов. *Prevotella*, *Streptococcus*, *Actinomyces* способны к коагрегации друг с другом. В больших количествах на границах ранних и поздних колонизирующих бактерий обнаруживаются фузобактерии, которые являются самыми многочисленными грамотрицательными микроорганизмами, обнаруживаемыми в пораженных и непораженных участках поверхностей полости рта. Эти бактерии считаются предшественниками присоединения *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*. Последними колонизируют зубную бляшку *Actinobacillus actinomycetemcomitans* [144, 149, 178, 216]. Практически все колониобразующие бактерии способны участвовать в дифференцировке и многоклеточной организации. На современном этапе развития микробиологии бактерии уже не рассматриваются как индивидуальные одноклеточные организмы, а расцениваются как целостные системы, в которых между микробами возникают взаимоотношения, определяющие групповые реакции в зависимости от условий экологической ниши [226, 346, 444, 465]. Так показано, что псевдомонады, свободно расположенные в микробной зубной бляшке, экспрессируют 45 генов, которых не экспрессируют такие же бактерии, находящиеся в прикрепленном состоянии [143, 229, 278, 356, 403,

414, 420, 470]. В настоящее время распознаны некоторые механизмы взаимодействия бактерий внутри многоклеточного сообщества, обеспечивающие координацию клеток в условиях изменяющейся внешней среды. В 1994 году было предложено понятие «Quorum Sensing» - «Ощущение сообщества», с помощью данной системы микроорганизмы осуществляют одно из важнейших условий – координируют, контролируют и регулируют численность популяции бактерий участников сообщества, плотность бактериального заселения занимаемой сообществом экологической ниши [167, 437, 491]. Для химической сигнализации у бактерий выделяют три класса молекул. Для грамположительных микроорганизмов самой распространенной является система сигнализации при помощи олигопептидов [368, 378, 404, 421]. Изначально происходит синтез про – белка, который неактивен до момента протеолитического расщепления, после которого активные олигопептиды проходят через оболочку клетки в окружающее пространство. Различаясь по структуре, олигопептиды определяют наличие групп штаммов внутри одного вида; олигопептиды одной группы активируют выработку экзотоксина – индуцируют патогенность определенного штамма, при этом специфически подавляют системы вирулентности в других группах, например Agr – вирулентность *Staphylococcus aureus* [399]. Второй класс сигнальных молекул используют более 400 видов грамотрицательных бактерий. В результате жирнокислотного синтеза при реакции переноса ацил белка и S – аденозилметионина образуются N – ацилгомосеринлактоны (AHLs), которые опознаются белками регуляторами транскрипции [398]. По данному принципу регулируют плотность популяции в биопленке псевдомонады, выделяя по – необходимости спектр экзотоксинов и эндотоксинов [201, 434]. Во взаимодействии грамположительных и грамотрицательных бактерий работает третий класс сигнальных молекул AI – 2, образующийся в процессе деятельности метилтрансфераз внутри микробной клетки. Для нормального функционирования клетки AI – 2 должен выводиться за её пределы, где и является сигналом, свидетельствующим о наличии живой клетки.

Согласованное взаимодействие бактериальных клеток внутри сообщества, при котором микроорганизмам удаётся приобретать «полезные» для выживания свойства показано в ряде новейших исследований. Важным проявлением межвидового взаимодействия бактерий в сообществе является неодинаковая экспрессия генов бактериальных цитокинов в одной биопленке, определяющих характер межклеточных взаимодействий для адгезии, индукции патогенности [201, 434]. Как показали геномные исследования, патогенные бактерии весьма разнообразны по комбинаторике генов, определяющих патогенность. У них имеются специфические гены, контролирующие синтез факторов вирулентности (адгезины, инвазины, порины, токсины, гемолизины). Большинство таких генов собрано в кластеры («островки патогенности»). Они могут быть локализованы в хромосоме бактерии или в плазмидах [344]. «Островки патогенности» участвуют в геномных перестройках, что и определяет приспособляемость и широкую внутривидовую вариабельность бактерий. Показано, что наборы генов в планктоническом состоянии и в составе биопленок у одних и тех же бактерий могут различаться, экспрессия генов, определяющих вирулентность, может меняться в зависимости от условий. *A. Actinomycetemcomitans* повышает выработку лейкотоксина при pH 7,0 – 8,0 и ограниченном поступлении сахаров, при данном значении на поверхности биопленки в анаэробных условиях (под десной) в присутствии карбонатов демонстрирует максимальный рост [61, 277, 473]. *P. gingivalis* при pH 7,0 – 8,0 демонстрирует максимальную активность трипсиноподобного фермента и при добавлении гемина – протеолитическую активность. Выживаемость *P. gingivalis* при коаггрегации с *A. Actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* и *F. nucleatum* при обработке их кислородом значительно повышалась [116, 135, 170, 319, 345, 374, 427, 435].

Гликокаликс и полимерные вещества, которые являются матрицей биологической пленки, противодействуют проникновению внутрь ее

антимикробных факторов организма, антисептических и химиотерапевтических антибактериальных средств. Клетки микробного сообщества способны к физическому взаимодействию за счет узнавания поверхностей клеток и прикрепления к специфическим участкам на мембранах, взаимодействию с помощью разного рода сигнальных молекул и за счет генетического обмена [167, 437]. Даже при простом увеличении числа микробных клеток в биопленке изменяется концентрация особых сигнальных молекул, которая запускает изменения в экспрессии генов [491].

Наддесневая зубная бляшка содержит много биоактивных продуктов распада, типа органических кислот, компонентов серы, переваривающих ткань ферментов, пептидогликанов и липополисахаридов. Эти компоненты распространяются в направлении от наддесневой бляшки до поверхности десневого эпителия, и обеспечивает поток жидкости десневой борозды и воспалительной жидкости в периодонтальную ткань, что создает дополнительные «пищевые поставки» для экосистемы биопленки, смежной с воспаленной десной. Протеолитические ферменты бактерий из бляшки ускоряют повреждение тканей десны. Разрушительный потенциал бактерий реализуется при дистантном воздействии их компонентов на ткани пародонта. Элементами вирулентности является эндотоксин Грамм негативных бактерий и некоторые экзотоксины Грамм позитивных бактерий [116, 135, 170, 319, 345, 374, 427, 435]. Проникновение данных веществ в ткани пародонта сопровождается целым каскадом тканевых защитных реакций за счет активации комплемента, выраженной активации полиморфноядерных (нейтрофильных) лейкоцитов и макрофагов. Патогенное воздействие этих факторов усугубляется токсическим эффектом на ткани продуктов метаболизма микроорганизмов, впоследствии это серьезно препятствует репарации тканей пародонта. Еще одной группой вирулентных факторов, оказывающие литический эффект на все компоненты тканей, являются бактериальные энзимы. Так, на фоне подавления репарации подобное

хроническое «переваривание» тканей приводит к выраженным дегенеративным изменениям и разрушению. Известны бактериальные ферменты, вызывающие разрушение тканей (коллагеназа, кератиназа, фосфолипаза А, нейраминидаза), предлагают, что производящие энзимы бактерии, такие как *P. gingivalis*, *B. forsythus*, и *T. denticola*, являются инициаторами активности болезни [318, 255, 363, 423, 428, 440, 463]. Недавние исследования показали, что матриксные металлопротеиназы (ферменты семейства Zn^{2+} и Ca^{2+} -зависимых эндопептидаз, участвующие в разрушении органических компонентов соединительной ткани ММП-1, ММП-8, ММП-13) связаны с деградацией коллагена соединительной ткани слизистой оболочки десны и также с разрушением альвеолярной кости. У 15 экспериментальных животных после установки тканевых блоков, содержащих LPS *A. Actinomycetemcomitans* в течение 8 недель, отмечалась значительная потеря кости. При иммуногистохимическом исследовании обнаружено большее количество активных остеокластов, по сравнению с 10 контрольными животными, экспрессия ММП в основном наблюдались в клетках периодонтальной связки, рядом с разрушенными участками альвеолярной кости [81, 107, 400].

По мере «созревания» в составе зубной биопленки накапливаются и начинают преобладать бактерии, имеющие высокий разрушительный потенциал по отношению к периодонтальной связке, соединительной ткани слизистой оболочки десны и альвеолярной кости. Известный исследователь в области заболеваний пародонта Socransky S. и его соавторы в 1998 и 1999 году описали «красный комплекс» бактерий (*Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides forsythus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii*, *Treponema denticola*), формирование которого ученый назвал «конечной стадией» развития патогенности и устойчивости к защитным системам организма - хозяина. Данные

микроорганизмы принято считать бактериальными факторами риска, пародонтита у «восприимчивых» людей [21, 24, 25, 256]. Имеется огромное количество исследований о влиянии факторов пародонтопатогенных бактерий на различные клетки тканей пародонта. Главные поверхностные антигены Грамм негативных бактерий – липополисахариды в пикомолярных концентрациях способны активировать выработку клетками (эпителиоцитами, нейтрофильными лейкоцитами, фибробластами, макрофагами периодонтальных тканей) различных медиаторов воспаления и цитокинов, которые являются главными регуляторами звеньев иммунитета [146, 163, 277].

Известно, что почти все заболевания полости рта вызываются бактериями, однако воспаление пародонта не инициируется общим количеством бактерий или минерализованной зубной бляшкой, а представляет собой в основном эндогенную инфекцию и имеет предпосылки. Такими необходимыми предпосылками являются: 1-наличие экологической ниши; 2-создание внешних условий, способствующих увеличению определенных видов резидентной флоры; 3-состояние защитных сил организма, которые способствуют развитию и активизации патогенной флоры [25, 184, 270, 276, 375, 493].

В большом количестве исследований были предприняты попытки выяснить, может ли наличие или отсутствие определенных патогенов пародонта различать пациентов хроническим и агрессивным пародонтитом. В одном из систематических обзоров собраны данные 11 исследований по наличию у больных с различными проявлениями пародонтита *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*, в 7-и исследованиях по *Porphyromonas gingivalis*, в 6-и по *Prevotella intermedia*, 2-х по *Bacteroides forsythus* и 2-х по *Campylobacter rectus*. По каждому из микроорганизмов оценивались чувствительность и специфичность микробиологических тестов относительно хронического или агрессивного течения пародонтита. В результате авторы пришли к выводу, что наличие или отсутствие перечисленных бактерий не позволяло различать

больных хроническим и агрессивным пародонтитом. И только дополнительное исследование на наличие островка патогенности у *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*, определяющего высокую лейкотоксичность данного штамма, было связано с агрессивным течением пародонтита у пациентов. [268, 351, 384] Так же предполагалось, что имеются географические особенности в распределении пародонтопатогенных бактерий у людей страдающих хроническими и агрессивными формами пародонтита, так при выявлении восьми патогенов: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella Intermedia*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola* и *Fusobacterium nucleatum* из 28 пораженных сайтов в полости рта больных в индийской популяции с хроническим и агрессивным течением пародонтита обнаружено, что данные бактерии были найдены и в здоровых и в пораженных участках полости рта у больных, определялась корреляция между патогенами и клиническими проявлениями (глубина зондирования, кровоточивость), но статистически значимой разницы в распространенности бактерий у пациентов с хроническим, агрессивным течением и у здоровых добровольцев не определялось. [454]

Многие из пародонтопатогенов обнаруживаются как у больных с агрессивным течением, так и у пародонтологически здоровых людей, при этом расцениваются как фактор риска возникновения или прогрессирования болезни пародонта, других заболеваний или неблагоприятных исходов болезней индивидуума [392].

Таким образом, этиологический фактор - это первичные патогены вирулентные бактерии биопленки полости рта, присутствие которых необходимое, но не единственное условие для развития воспаления в пародонте. Бактериальная биологическая пленка представляет собой особым образом структурированное сообщество бактериальных клеток, расположенных в самопроизведенной полимерной матрице и приводит к

формированию хронического воспаления [362]. Развитие представлений о роли микроорганизмов в болезнях полости рта шло от идеи о простом накоплении зубного налета, приводящего к инициации воспаления. Позже, в 1986 году данные идеи обогатились знаниями о различной вирулентности микроорганизмов зубного налета, в 1994 году – представлениями о взаимодействии различных видов внутри биопленки. Что получило развитие и реализовалось в известных комплексах (Socransky), которые включают бактериальные кластеры на основе их связи с заболеваниями пародонта и, совсем недавно появилась концепция о ключевых возбудителях, которая указывает, что определенные микробные патогены (Keystone pathogen) в очень низкой численности, могут вызвать воспалительное заболевание путем увеличения количества нормальной микрофлоры и путем изменения ее состава [32]. На примере *Porphyromonas gingivalis* показано, что данный микроорганизм имеет возможность манипулировать иммунной системой своего хозяина [317], было сделано предположение, что это не только облегчает ее собственное выживание и размножение, но и всего микробного сообщества. В отличие от доминирующих видов, которые могут вызвать воспаление за счет присутствия в больших количествах, ключевые патогены могут вызвать воспаление, когда они присутствуют в малых количествах [213, 264, 266, 336]. Когда заболевание прогрессирует, на продвинутой его стадии данные патогены обнаруживаются в более высоких количествах [433]. Важно отметить, что даже при абсолютном увеличении их числа, происходит уменьшение в сравнении с уровнем общей бактериальной нагрузки, а накопление зубного налета увеличивается [469]. При этом принцип "красного комплекса" соблюдается. Исследования на мышах показали, что низкий уровень присутствия *P. Gingivalis* (<0,01% от общего количества бактерий бляшки) может привести к изменению состава зубного налета и развитию пародонтита [265]. В эксперименте у стерильных мышей *P. Gingivalis* смог колонизировать сам по себе, но не смог вызвать заболевание без присутствия других видов бактерий. Существует мнение, что все бактерии в зубном налете

вносят вклад в вирулентность микрофлоры, имея определенную роль - уклонение от защитного механизма, и/или провокация воспаления и деструкция тканей пародонта [472]. А также, что "любая микробная колонизация в достаточном количестве в десневой борозде вызывает по меньшей мере гингивит" была поддержана потому, что не наблюдалось наличие непатогенного микробного налета, который не вызывает гингивит в отсутствие гигиены полости рта. При этом не вызывает сомнения, что у некоторых людей есть гингивит на всю жизнь без разрушения костной ткани, в то время как у других людей происходит быстрое прогрессирование в пародонтит. Определенное значение в выборе видов бактерий - колонизаторов принимающего организма отводится окружающей среде, известно, что бактерии со слюной непрерывно переходят в кишечник, но только 29 из более чем 500 таксонов, встречаемых в полости рта, обнаруживаются в образцах фекалий [364].

Однако, известные гипотезы не учитывают генетических факторов хозяина, которые существенно влияют и на состав зубного налета, и на восприимчивости к болезням [249, 347].

В настоящее время доминирующей является воспалительная концепция пародонтита, определяемая как результат взаимодействия «патоген - организм хозяин», согласно данным представлениям, защитные реакции организма фагоцитоз, иммуногенез, призванные элиминировать микробный агент и восстановить экологию полости рта, становятся сами патологическими механизмами деструкции тканей пародонта. Инфильтрация тканей воспалительными клетками является основой формирования и распространения воспалительных изменений от мягких тканей пародонтального комплекса по ходу кровеносных сосудов на костные структуры, представляя собой единую систему динамических реакций. Повреждающие факторы формируются за счет взаимодействия, взаимной активации бактерий, клеточных элементов повреждаемых тканей

(эпителиоцитов, эндотелиоцитов, фибробластов) и воспалительных клеток (нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов).

Реакция организма на повреждающий бактериальный фактор связана со сложнейшими системами иммуногенеза и воспаления; и, традиционно, рассматривается на локальном и системном уровнях.

Одними из первых повреждающих пародонт факторов, приводимых в литературе, являются разнообразные протеолитические энзимы, по аминокислотному составу близкие с бактериальными, высвобождаемые нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами, поврежденными фибробластами и тучными клетками. Повышенная активность данных ферментов всегда определяется в тканях и десневой жидкости при пародонтите [40, 41, 60, 84, 416].

Очевидно, что бактерии необходимы для инициирования пародонтита, но для объяснения широкого спектра состояний, связанных с инфекцией: от бессимптомного течения до развития выраженных клинических проявлений и быстрой резорбции опорной кости, наличие некоторого количества и типов бактерий оказалось недостаточно. В последние годы, стало ясно, что для многих распространенных хронических заболеваний, существуют факторы, которые не вызывают болезнь, а модифицируют (чаще потенцируют) некоторые механизмы, что приводит к более тяжелому клиническому течению болезни.

1.2 Цитокиновая регуляция и процессы прогрессирования хронического воспаления в тканях пародонта, полиморфизм генов воспалительных цитокинов

При хроническом воспалении в воспалительном инфильтрате и поврежденных клетках образуются медиаторы, имеющие высокую патофизиологическую активность, играющие ведущую роль в нарушении тканевых функций – цитокины. Цитокины это гормоноподобные пептиды или

гликопептиды с низкой молекулярной массой. Они регулируют все важнейшие биологические процессы, в том числе размножение клеток, их рост, их активацию, воспаление, иммунитет и восстановление. Вместе с другими медиаторами цитокины образуют крупную сеть, отвечающую за поддержание тканевого гомеостаза в норме, так и за иммунный ответ любого типа [73, 89, 90, 131].

Сеть цитокинов это важнейшее звено межклеточных короткодистантных взаимодействий, которые определяют совместную активацию клеточных популяций, вовлечение в процесс новых клеток, способны к самоподдержанию собственной продукции в ходе иммунного ответа. Клетки, которые вырабатывают цитокины, и клетки-мишени постоянно обмениваются сигналами, реализуя так называемый «клеточный интернет», это делает возможным очень тонкую регуляцию гомеостаза и воспаления. В очагах поражения пародонта скапливается большое количество нейтрофильных лейкоцитов, высвобождающих различные цитокины, проявляющие токсическое действие на фибробласты соединительной ткани, проявляющееся в подавлении ресинтеза соединительной ткани. Эти же цитокины при действии на костную ткань, в условиях патологии, способны нарушать ремоделирование кости, вызывая гиперактивность остеокластов, обнаружена прямая связь деструкции кости и накоплением цитокинов (IL-1, TNF α , PGE-2). В настоящее время открыто множество новых молекул, известно более 33 цитокинов, по сходству структуры или функции, объединенных в семейства [17, 25, 40, 42, 86, 110, 111].

Среди цитокинов так же выделяют цитокины врожденного иммунитета (IL-1 β , TNF α , IL-6, рецепторный антагонист IL-1 β – IL-1RN, IL-10) и адаптивного иммунитета (IL-4, IL-2). В последние годы формируется представление о первостепенной роли системы цитокинов в защите организма от инфекций. Многочисленные факторы указывают на наличие тесной связи между уровнем продукции этих молекул и клиническими характеристиками

инфекционного процесса. Для пародонтита характерна повышенная секреция провоспалительных и катаболических цитокинов, в первую очередь активаторов IL-1 β и TNF α . Они активируют выделение других цитокинов IL-6, медиаторов воспаления PGE-2, и ферментов, обладающих деструктивным потенциалом (ММП). IL-1 – активатор клеток в очаге воспаления, является хемоаттрактантом для некоторых клеток, увеличивает подвижность нейтрофильных лейкоцитов, стимулирует фагоцитоз [42, 46, 51, 56, 61]. По некоторым данным, повышенный системный уровень IL-1 β может быть показателем скрытого, хронически протекающего воспаления [46]. TNF α – медиатор воспаления, принимает участие в патогенезе инфекционных и иммунопатологических болезней, реализуя многогранное действие на клетки – мишени, регулирует апоптоз и взаимодействие с иммунокомпетентными клетками [48, 52, 68, 122]. TNF- α реализует свои эффекты через два структурно подобных рецептора TNFR-1 и TNFR-2 [154]. Эти рецепторы активируют различные сигнальные пути и имеют различные цитоплазматические домены. Усиливается воспалительный эффект опосредовано через TNFR-1 сигнализацию, посредством TNFR-2 воспалительная реакция ослабляется [314].

Большая часть болезней – многофакторные, с генетическим компонентом. В основе его лежит вариабельность генов или полиморфизм (изменчивость генов). Генетический дефект может быть сам по себе достаточно выраженным, чтобы вызвать заболевание, это дефекты одиночных генов или хромосомные дефекты, примером может служить синдром Папиньона - Лефевра, при котором пародонтит возникает в подростковом возрасте или даже в момент смены временного прикуса на постоянный. Главной проблемой в таких ситуациях являются дефекты нейтрофильных лейкоцитов: раздельное или сочетанное нарушение многих их функций: хемотаксиса, продукции пероксида, фагоцитоз, бактерицидной активности.

В последнее десятилетие с огромным интересом изучаются полиморфизмы генов цитокинов, которые регулируют воспаление (*IL-1*, *TNF α* , *IL-4*, *IL-6* и др.). В этих случаях сам факт наличия мутантного гена не вызывает болезни, но продукция цитокинов изменяется, что в последствии, может определить чрезмерную реакцию на бактериальную нагрузку и клинически проявиться выраженной деструкцией тканей пародонта, очень частыми обострениями болезни, воспаление более длительное и разрушительное, заживление костной раны затруднено или вообще не происходит.

Ведущие ученые из США и Германии создали проекты «Геном человека», который был выполнен к 2000 г. Расшифрованы более 30 миллиардов пар нуклеиновых оснований ДНК человека, следующая более сложная задача – расшифровать, выяснить функцию отдельных генов в рамках проекта «Структура генома» для того, чтобы понять, как действуют нормальные и поврежденные гены, научиться применять эти знания для диагностики, прогноза и лечения болезней.

В результате реализации проекта «Геном человека» идентифицированы гены, которые приводят к наследственным болезням человека или повышают риск развития многофакторных заболеваний человека. Существует представление о влиянии различий в генах, контролируемых воспалительные защитные реакции организма, на уровень продукции закодированных данными генами белков, и в конечном итоге на сам характер иммунного ответа. Одним из ключевых воспалительных цитокинов является IL-1 – цитокин с широким спектром биологических и физиологических эффектов. Семейство IL-1 включает IL-1 α , IL-1 β , рецепторный антагонист IL-1 (IL-1RA) и рецепторы. Свои биологические эффекты IL-1 β реализует после связывания со специфическим рецептором, расположенным на поверхности мембран, IL-1RA конкурентно связывается с тем же рецептором IL-1RI и блокирует его, не вызывая биологических эффектов. Гены данного семейства локализованы на

длинном плече 2 хромосомы, 20 из 22 экзонов и 8 из 9 интронов гена *IL-1 β* имеют структурные варианты, в интроне 5 имеется последовательность, определяющая «чувствительность» к глюкокортикоидам – ингибиторам транскрипции IL-1. Отмечено, что различия на уровне последовательностей генов у двух индивидуумов составляют приблизительно 0,1% [110]. Чаще всего, различия в структуре генов возникают вследствие замены единичных нуклеотидов (SNP single-nucleotide polymorphism), несколько реже происходит различное количество одинаковых повторов коротких фрагментов гена – тандемные повторы. Появление подобных мутаций в кодирующей части генов приводит к нарушению структуры закодированного белка и элиминируется в процессе репарации ДНК или естественного отбора. Большинство из однонуклеотидных замен и тандемных повторов встречаются в регуляторных участках генов в промоторе или в интронах, что приводит к изменению уровня биологической активности кодируемого белка [195, 279]. По мнению многих исследователей, соотношение между продукцией, экспрессией и ингибированием продукции IL-1, что имеет значение в регуляции воспалительного процесса. Исследования показали, что ряд полиморфных аллелей ассоциированы с пониженной или повышенной продукцией IL-1 в ходе реализации воспаления, так замены нуклеотидов в позициях (-137, -607) ассоциируют с пониженной выработкой, а замены в позициях (-511, +3953) с повышенной выработкой цитокина [165, 246]. В гене *IL-1RN* чаще встречается аллель *4R*, содержащий четыре повтора по 86 п.о. (*VNTR - variable number tandem repeat*), реже встречается и считается мутантным аллель с двумя повторами, особенно редко (меньше 4% случаев) встречаются в популяции носители аллелей с тремя, пятью и шестью тандемными повторами [282, 297, 488]. Носительство аллеля *2R* гена *IL-1RN* связывают с высоким уровнем экспрессии мРНК и циркуляцией повышенного уровня IL-1Ra. Также имеются данные, что присутствие в геноме сочетаний *IL-1 β +3953T/ IL-1RN 2R*; *IL-1 β +3953C / IL-1RN 2R* и *IL-1 β +3953T/ IL-1RN 2R* может существенно влиять на характер воспалительного ответа. Клинические наблюдения в разных

областях медицины показывают, что при одинаковых условиях ответная воспалительная реакция у разных индивидуумов, имеющих неодинаковые генотипы, существенно различается и проявляется определенным образом при различных воспалительных заболеваниях [445, 476, 480]. По мнению ряда исследователей носительство немутантных аллелей генов *IL-1 β* и *IL-1RN* связано со сбалансированной ответной реакцией при реализации воспаления, при носительстве полиморфных аллелей, определяющих перевес в сторону образования *IL-1 β* воспаление должно протекать более остро, а при носительстве полиморфных аллелей, определяющих перевес в сторону образования его рецепторного антагониста *IL-1Ra*, воспалительный ответ более продолжительный и ведет к хронизации воспаления. Также соотношение *IL-1 β* / *IL-1Ra* может по-разному изменяться на разных этапах реализации воспаления у носителей «полярных» генотипов, что имеет отражение в многочисленных противоречивых данных проведенных исследований по выявлению ассоциаций между носительством полиморфного аллеля *2R* гена *IL-1RN* и уровнем выработки *IL-1Ra*, и между носительством полиморфного аллеля *-511T* гена *IL-1 β* и уровнем выработки *IL-1 β* . Ряд исследователей определяли нормальный или сниженный уровень выработки *IL-1Ra* у носителей аллеля *2R* гена *IL-1RN* в ходе реализации воспаления [445, 476, 480], чаще сообщают о наличии высоких уровней *IL-1Ra* у носителей аллеля *2R* гена *IL-1RN* [445, 476, 480]. Существует предположение, что у носителей *IL-1RN*2* повышена выработка и *IL-1Ra* и *IL-1 β* , повышенная выработка *IL-1Ra* вызывает увеличенную выработку *IL-1 β* компенсаторно, а повышенное количество *IL-1 β* , в свою очередь, увеличивает выработку *IL-1Ra* [282, 297, 445, 476, 480, 488]. Кроме того, имеются данные о расовых и территориальных различиях в распределении ассоциации данных генов [110]. Гены другого важного провоспалительного цитокина *TNF α* расположены на 6 хромосоме в пределах HLA класса III, и известный полиморфизм *G-308A* гена *TNF α* также связывают с повышенной базальной и индуцированной выработкой *TNF α* в ходе реализации воспаления [1, 2, 359]. *G-308A*

полиморфизм показывал корреляцию с 20-40% процентным увеличением экспрессии $TNF\alpha$ [232], что в значительной степени отражало восприимчивость к инфекциям [261]. Этот полиморфизм служит четким маркером плохого прогноза у больных, перенесших церебральную малярию, септический шок, периодонтит, цирроз печени при гепатите С и менингококковую инфекцию [166, 390, 481, 489]. Исследовалась ассоциация между полиморфизмами генов ($G -308A TNF\alpha$, $C+3953T IL-1\beta$, $C-174T IL-6$) провоспалительных цитокинов и восприимчивости к отиту у детей и было обнаружено, что $G -308A TNF\alpha$, и $C-174T IL-6$ полиморфизм существенно связан с предрасположенностью к воспалению среднего уха [151, 199, 296, 303, 456, 474].

Другой интерлейкин - $IL-4$ определяет активацию и дифференцировку В-клеток, тучных клеток, развитие Th2 лимфоцитов и ингибирует высвобождение медиаторов воспаления, таких как $TNF\alpha$, $IL-6$, $IL-1\beta$ из активированных моноцитов. Основным клеточным источником $IL-4$ являются $CD4 + T$ - лимфоциты из подмножества Th2, а также активированных тучных клеток. $CD4 + Th$ клетки различаются по спектру продуцируемых цитокинов. Th1 клетки производят в основном интерфероны, $IL-2$, $TNF\alpha$ и способствуют реализации клеточно-опосредованного иммунитета, Th2 клетки, которые секретируют $IL-4$, $IL-10$, $IL-13$ и связаны с гуморальным иммунным ответом и производством антител [51, 52, 113]. Биологические действия $IL-4$ включают стимуляцию IgE и эозинофил - опосредованные реакции, отвечает за индукцию и расширение подмножества Th2- лимфоцитов, ингибирование продукции Th1 клеток уменьшает производство провоспалительных цитокинов, деструктивные ферменты моноцитов [111, 424]. Ген $IL-4$ картирован на 5 хромосоме (5д31-q33), вместе с генами для других цитокинов Th2, таких как $IL-5$ и $IL-13$. Наиболее сильный эффект $IL-4$ оказывает на регуляцию образования других цитокинов при иммунном ответе. $IL-4$ ограничивает синтез макрофагами провоспалительных $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-8$, $IL-12$, $TNF\alpha$,

образование высокоактивных метаболитов кислорода, азота, усиливает дифференцировку в цитотоксические Т-клетки, активирует макрофаги, усиливая их цитотоксический потенциал, индуцирует пролиферацию НК-клеток [94, 299, 448]. Предполагается, что ингибирующий эффект IL-4 обусловлен снижением экспрессии онкогенов, блокадой клеточного цикла и усилением экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) I и II классов на опухолевых клетках. Показано, что IL-4 играет важную роль в регуляции синтеза эстрогенов и оказывает влияние на ремоделирование кости [59, 61]. Известен еще один полиморфизм в гене IL-4 - число tandemных повторов (70 пар оснований) в области третьего интрона, наиболее часто встречается аллель с тремя повторами (3R), реже аллель с двумя повторами (2R), также есть третий, очень редкий, аллель (4R). Имеются данные о том, что 3R (VNTR интрон 3) гена IL-4 может быть маркером наличия другого полиморфного аллеля (-590T), в большей мере влияющего на транскрипционную активность гена IL-4 [239, 357, 436]. Есть данные, что 2R аллель может быть защитным фактором при ревматоидном артрите для разрушения тканей суставов, проведенных в 2007 году следует, что генетические вариации гена IL-4 могут предрасполагать к развитию терминальной стадии почечной недостаточности [164, 429].

Гены цитокинов обладают высокой степенью полиморфизма. Так как цитокины являются медиаторами воспаления, изучение генов, контролирующих их активность, является перспективной задачей при исследовании механизмов развития, течения многих заболеваний, выявление предрасположенности к ним. [157, 206, 207, 273].

Тот факт, что полиморфные аллели в геноме человека непосредственно не вызывают заболевание пародонта или какое - либо другое заболевание, а только делают его восприимчивым в разной степени или не восприимчивым, вызывает большой интерес исследователей для поиска маркеров предрасположенности, прогрессирования и прогноза воспалительных

заболеваний пародонта. Одно из первых исследований, опубликованное в 1975 году показало, что у легавых собак с одинаковым количеством зубных отложений отмечалась неодинаковая тяжесть течения пародонтита, что позволило авторам сделать предположение о влиянии генетических характеристик животных на течение болезни [331]. Дальнейшие исследования подтверждали предположение о наследственном характере проявлений поражения пародонта (степени тяжести процесса, глубине пародонтальных карманов у пар близнецов) [383]. Логично, что ключевые гены воспалительных цитокинов, регуляторов иммунного ответа, стали изучаться как гены – кандидаты, оказывающие влияние на характер течения, исход и прогноз заболевания пародонта [5, 42, 67, 111, 112, 113, 126]. В 1997 году было продемонстрировано, что наличие полиморфных аллелей кластера гена *IL-1*, ответственного за первичный ответ на микробную инфекцию оказывает влияние на характер иммунных реакций [240, 302, 459].

В некоторых последних клинических исследованиях были оценены два из полиморфизмов кластера *IL-1*, совместное носительство которых было связано со значительным увеличением риска развития тяжелого генерализованного пародонтита. Генетическая связь с пародонтитом была показана в группе больных, из которой курильщики были исключены. Полиморфизм кластера *IL-1* представлен как самостоятельный модифицирующий фактор, так как *IL-1* активирует деградацию внеклеточного матрикса кости и периодонтальных тканей, кроме того способствует повышению уровня PGE2 и потенцирует образование TNF α . В данном исследовании наличие полиморфных аллелей коррелировало с 2 и 4 кратным повышением выработки *IL-1 β* и полностью согласовалось, по мнению авторов, с представлениями о модели развития пародонтита. Это означало следующее: 1) фактор инициирующий заболевания - специфические бактерии, такие как *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и *Bacteroides forsythus*; 2) модификаторы механизмов болезни, определяющие

клиническую тяжесть заболевания - курение, *IL-1* генотип, определенные системные заболевания и психологический стресс. [67, 112, 326].

Исследования выживаемости зубных имплантатов у пациентов с полиморфизмом генов *IL-1 α* и *IL-1 β* продемонстрировали значительно более выраженную потерю костной массы у пациентов гомозиготных по аллелю *IL-1 β -511 T/T*. Была показана корреляция полиморфизма гена *IL-1* и клинических и рентгенологических признаков на этапах остеоинтеграции имплантатов. Не выявлено статистически значимых различий между *IL-1 +* и *IL-1 -* пациентами без потери костной ткани по результатам рентгенологического исследования. [223, 449].

Анализ двух исследований по *TNF α -308 A/G* полиморфизму и трех исследований для *TNF α -238 A/G* полиморфизму с учетом этнических признаков показал, что *TNF α -308 A* аллель был связан с развитием хронического генерализованного пародонтита в бразильской, азиатской и турецкой популяциях. Мета-анализ показал отсутствие связи между *TNF α -238 A/G* полиморфизмом и развитием хронического генерализованного пародонтита в бразильской, азиатской и турецкой популяциях [162, 245, 252, 300, 352, 483]. В другом исследовании полиморфизмы гена *TNF α* в позициях – 376, – 308, – 238 и + 489 не продемонстрировали ассоциации с пародонтитом и, по мнению авторов, не могут считаться маркерами для пародонтита [224].

Роль хозяина иммунной системы имеет решающее значение для защиты тканей пародонта, так как выстраивает барьер из нейтрофильных лейкоцитов между биопленкой на поверхности эпителиальных клеток. Вырабатывает IL-8, фактор межклеточной адгезии (ICAM) и E-селектин, которые требуются для формирования адекватного барьера [479]. Кроме того, эпителий экспрессирует в широком диапазоне низкие уровни Толл-подобных рецепторов (TLR), включая TLR1 - TLR9, способные послужить посредниками в ответ на широкий диапазон микроорганизмов [287, 289, 343, 386]. Массив различных TLRs в сочетании с множеством видов бактерий приводит к выработке и

выбросу большого спектра цитокинов [442, 487]. Исследования, проведенные на линиях стерильных мышей, показывают наличие низких уровней IL-1 β , в периодонтальных тканях [196, 222, 235]. Это указывает на то, что базовый уровень экспрессии цитокинов генетически запрограммирован, даже без бактериального заражения. У трансгенных мышей со сверхэкспрессией IL-1 α , IL-1 β пародонтит развивался при отсутствии значительного бактериального заражения [141, 373]. В последующем состав и количество бактерий в зубном налете модифицирует экспрессию цитокинов. В недавних исследованиях у 385 лиц, имеющих полиморфный аллель *C-511T* гена *IL-1 β* с бактериальным профилем, как и у пародонтологически здоровых людей, определялись признаки развития пародонтита, что, по мнению авторов, было связано с дефектами регулирования воспалительного ответа [196, 360].

1.3 Прогнозирование течения хронического генерализованного пародонтита

Большое количество и разнообразие работ по изучению генов, контролирующих активность цитокинов, подтверждает актуальность и перспективность данного направления при выявлении предрасположенности, исследовании механизмов развития и течения заболеваний пародонта.

Известно, что воздействие цитокинов на клетки - мишени в тканях пародонта может обуславливать особенности гистопатологической картины [23, 27, 113, 307]. Важнейшие свойства IL-1 - стимуляция пролиферации преактивированных антигеном зрелых Т-лимфоцитов, увеличение продукции IL-2, IL-4, TNF α , стимуляция фагоцитоза – хорошо известны и широко освещены в литературе. Основными клетками-продуцентами IL-1, TNF α , IL-4 в организме являются моноциты/макрофаги, а также Т- и В- лимфоциты, нейтрофильные лейкоциты, клетки эндотелия [75, 159, 199, 200, 283, 285, 288, 396, 447]. Имеются данные, что уровень IL-1 β коррелирует с плотностью расположения макрофагов и лимфоцитов в воспалительных инфильтратах [326].

Одним из первых убедительных доказательств важной роли реагирования организма - хозяина в прогрессировании пародонтальной деструкции была работа, выполненная на гончих собаках, с использованием флурбипрофена (мощного ингибитора циклооксигеназы), который сократил степень потери костной массы, вызванной пародонтитом [236]. Взаимосвязь характера структурных изменений в пародонте и полиморфизма генов, контролирующих выработку цитокинов, оценивали в ряде исследований. При анализе распределения IL-1 β в тканях слизистой оболочки десны в очагах максимальной деструкции возле глубоких пародонтальных карманов было установлено, что в клеточном инфильтрате определялось максимальное количество полиморфноядерных нейтрофильных лейкоцитов и моноцитарно-макрофагальных клеток (CD68 позитивных). При оценке уровня продукции IL-1 β в данных сайтах, получены максимальные значения, по сравнению с сайтами с менее выраженной деструкцией тканей. Корреляционный анализ показал наличие сильной положительной связи уровня цитокина в ткани с плотностью и составом клеточного воспалительного инфильтрата [214, 251, 306, 391, 496]. Механизмы формирования воспалительного инфильтрата при пародонтите довольно широко освещены в литературе, еще в 1976 году (Page and Schroeder) и позже в 1997 году (Kornman) описали этапы формирования изменений в эпителии и соединительной ткани десны при прогрессировании воспаления. Уже на начальных стадиях воспаления лимфоциты и нейтрофильные лейкоциты являются преобладающими клетками, фибробласты начинают демонстрировать признаки дегенерации путем апоптоза, изменяются коллагеновые волокна, чтобы обеспечить пространство для лейкоцитарной инфильтрации. Базальный слой эпителиальных клеток пролиферирует для увеличения физического барьера между биопленкой и соединительной тканью, формируется акантоз [38, 41, 153]. Однако такое раннее поражение может сохраняться в течение длительного периода времени, прежде чем формируются более выраженные изменения, что зависит от многих факторов, в основном связанных с восприимчивостью хозяина. Тем не

менее, было показано, что зубы, находящиеся в месте постоянного воспаления продемонстрировали 50 - летнюю выживаемость в 63,4 %, по сравнению с 99,5% выживаемостью зубов, не имеющих воспаления [410]. Имеются данные, что у более молодых индивидуумов в клеточном инфильтрате преобладают лимфоциты, в то время как в более позднем возрасте доминирующим типом клеток является плазменные клетки. Деградация коллагена продолжается, пока инфильтрат из воспалительных клеток расширяется вглубь ткани, что сопровождается выраженным акантозом. Нарушенное прикрепление эпителия позволяет более глубоко мигрировать бактериальной биопленке. Этот этап поражения тканей пародонта также может оставаться стабильным в течение нескольких месяцев или лет, а может перейти в более разрушительную степень поражения [14, 330, 365]. Нарастающая инфильтрация воспалительными клетками, в основном, плазматическими клетками, распространяется глубоко в соединительную ткань, что приводит к увеличению воспалительных изменений и иммунопатологическому повреждению тканей. Основной целью формирования иммунного ответа организма – хозяина является защита от вторжения патогенов, при пародонтите, как и при некоторых других хронических заболеваниях, эта реакция становится частью проблемы, так как целый ряд разнообразных факторов, способствует поддержанию воспаления и деструкции тканей пародонта [337, 432, 464].

В дополнение к лейкоцитам и лимфоцитам воспалительного инфильтрата, клетки пародонта, в том числе фибробласты, эпителиальные, эндотелиальные клетки становятся источниками биологически активных агентов, таких как IL-1, TNF- α , PGE-2 и участниками разрушения ткани [33, 40, 48, 57]. Предполагается, что прогрессирование болезни происходит из-за комбинации многих факторов, в присутствии пародонтопатогенных бактерий, высоких уровней провоспалительных цитокинов, матриксных металлопротеиназ (MMP), PGE-2 и низких уровней интерлейкина-10 (IL-10), трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) и тканевых ингибиторов

металлопротеиназ (TIMPs). В этой концепции, ясно, что баланс цитокинов определяет, что происходит - разрушение ткани или гомеостаз поддерживается [238, 413].

Заболевания пародонта связаны с более высокой долей анаэробных и грамотрицательных бактерий, таких как *Prevotella*, *Leptotrichia*, *Veillonella*, *Porphyromonas* и *Treponema*. Эти бактерии могут вызвать разрушение тканей непосредственно через эндотоксины и ферменты или вызывать несбалансированный иммунный ответ.

Наряду с этим в большом количестве исследований показано, что ингибирование IL-1 и TNF- α уменьшает рекрутирование воспалительных клеток (особенно моноцитов и лимфоцитов) в ткани пародонта. В результате чего происходит снижение выраженности воспалительных изменений в тканях, снижается потеря прикрепления тканей десны к зубу и резорбция костной ткани [221, 237]. Позже, экспериментальные исследования на нокаут-мышинных моделях подтвердили гипотезу, что цитокины являются важнейшими участниками в процессе возникновения, развития и прогрессирования болезни.

Важным этапом в понимании механизмов развития и активации компонентов реакции организма хозяина явилось изучение семейства Toll-подобных рецепторы (TLRs), которые первыми обнаруживают присутствие бактерий. Активация врожденного иммунного ответа происходит при связывании различных бактериальных компонентов (диацилпероксиды, липопептиды, пептидогликан, липополисахариды, флагеллина, бактериальная ДНК) с TLRs, в результате чего включаются внутриклеточные сигнальные каскады, приводящие к активации факторов транскрипции, таких как ядерный фактор-kB (NF-kB), активатор протеина-1 (AP-1), и p38, начиная производство различных цитокинов, многие из которых непосредственно или косвенно стимулируют образование и активацию остеокластов [26, 388, 409].

Лимфоциты в больших количествах присутствуют в клеточных инфильтратах слизистой оболочки десны, являются важными иммунными клетками, которые производят IL-1 β , -6, -17, активатор рецепторов из NF-kB лиганда (RANKL), TNF- α цитокины - одни из наиболее известных факторов, связанных с деструкцией тканей пародонта [230, 286, 350]. Лимфоциты также секретируют молекулы, которые непосредственно ингибируют образование остеокластов, в том числе остеопротегерина (OPG); IL-4, -10, -13 и интерферон- γ (IFN- γ) [250, 308, 405]. В настоящее время существует мнение, что обе популяции клеток Т- и В-лимфоциты присутствуют в тканях пародонта при прогрессировании болезни, так сообщается, что Т- и В-клетки, выделенные из тканей десны больных пародонтитом, оказываются на более продвинутой стадии клеточного цикла, чем периферийные Т- и В-клетки крови, демонстрируя активацию данных клеток непосредственно в тканях десны [155, 263, 386]. В экспериментальном исследовании иммунодефицитных (лишенных В и Т-лимфоцитов) и иммунокомпетентных мышей заражали *P. Gingivalis*, затем наблюдали значительно меньшую деструкцию кости в группе иммунодефицитных мышей по сравнению с иммунокомпетентными мышами, после чего авторы пришли к выводу, что В и Т-лимфоциты, защищая хозяина от *P. Gingivalis*, способствуют существенной потере костной массы, когда присутствуют [168, 185, 439].

В другом исследовании для обнаружения клеток, являющихся источником повышенного количества RANKL при наличии выраженной резорбции опорной альвеолярной кости, авторы измеряли концентрации растворимого RANKL в гомогенатах пораженных тканей и обнаружили, что концентрации RANKL были значительно выше в пораженных тканях десны по сравнению со здоровыми тканями. В пораженных тканях десны 50% Т-клеток и 90% В-клеток оказались источниками RANKL, по сравнению с 20% от В-клеток и Т-клеток, которые экспрессировали RANKL в здоровых тканях десны. Кроме того, лимфоциты, выделенные из тканей десны пациентов с

выраженной деструкцией кости, в пробирке индуцируют дифференциацию зрелых клеток остеокластов RANKL-зависимым образом, что может служить доказательством того, что источником RANKL для резорбции кости могут служить активированные Т-клетки из воспалительного инфильтрата десны [168, 172, 183, 194, 220, 253, 272, 405]. В похожем исследовании изучались активированные В-клетки, *A. actinomycetemcomitans* - иммунизированных животных и было показано, что В-клетки из *A. actinomycetemcomitans*-иммунизированных животных имели более высокие уровни экспрессии RANKL и вызывали значительно более высокий уровень дифференциации остеокластов, чем В-клетки неиммунных животных. Также иммунизированные животные продемонстрировали повышенное образование остеокластов на альвеолярной поверхности кости, значительную резорбцию альвеолярной. Исследование показало, что В-лимфоциты могут способствовать повышению деструкции соединительной ткани десны и костной резорбции и этот эффект связан с повышенной экспрессией RANKL [173, 415]. Серьезный вклад в патогенез резорбции опорной альвеолярной кости вносит аутоиммунный компонент, связанный с реагированием на повреждение коллагена типа I, одного из основных составляющих пародонта. Установлено, что у пациентов с пародонтитом определяются более высокие титры антител к коллагену I типа в десне, по сравнению с уровнем данных антител в периферической крови [171]. Кроме того у пациентов с пародонтитом в тканях десны в воспалительном инфильтрате идентифицированы клоны Т - клеток специфичные к коллагену I типа [169, 485]. Было также показано при пародонтальных поражениях увеличивается число аутореактивных В – клеток, экспрессирующих CD5+, производящие большое количество IgM и IgG к коллагену, чем CD5- В – клетки *in vitro*. Известно, что молекула CD5+ принимает участие в модулировании сигналов, также является двойным рецептором, который способен как стимулировать, так и ингибировать сигналы, на поверхности В – клеток, экспрессируется только в ответ на очень сильные стимулы и степень экспрессии CD5 косвенно

зависит от IL-1 β . Хотя все механизмы, которые вызывают иммунную реакцию на компоненты собственных тканей, полностью не выяснены, авторы предположили, что данный механизм объясняет связь между бактериальной инфекцией и последующими аутоиммунными механизмами деструкции тканей [123, 175, 176, 189, 320, 418].

В настоящее время существует мнение, что в период хронической фазы заболевания лимфоциты выполняют защитную функцию, облегчая элиминацию бактерий, задерживая прогрессирование болезни. В исследованиях у нормальных крыс, инфицированных *Actinomyces viscosus* и *Bacteroides gingivalis* при истощении В – лимфоцитов и снижении выработки антител показано значительное увеличение потери костной массы альвеолярной кости [193]. В экспериментальном исследовании сыворотка крови от пациентов с тяжелым пародонтитом, содержащая высокие титры антител к *P. gingivalis*, полностью блокировала резорбцию кости, а с помощью сыворотки людей с низким титром этих антител не удавалось остановить резорбцию кости [187, 431]. Одновременно с этим, уровни антител к микроорганизмам зубного налета положительно коррелирует с пародонтальной деструкцией и потери костной массы, и даже предлагалось использовать эти показатели для прогноза потери костной массы у пожилых пациентов [160, 198]. Эти и другие результаты указывают на то, что специфические антитела, продуцируемые в ответ на пародонтопатогенные бактерии являются защитными, но восприимчивые к пародонтиту лица характеризуются производством антител, не имеющих протективных свойств.

Важную роль в определении эффекта Т-клеточных иммунных реакций против патогенов играют CD4⁺ Т-клетки. Эффекторные CD4⁺ Т-клетки делятся на Th1 и Th2 подмножества. Цитокины, вырабатываемые Th1-лимфоцитами включают IFN- γ и TNF- α и $-\beta$, имеют решающее значение для уничтожения внутриклеточных возбудителей, но посредством прямых или косвенных воздействий реализуют прорезорбтивный эффект. В то время как

Th2 цитокины IL-4 и IL-10, такие свойства не проявляют. Пересадка антиген-специфических клеток Th1 крысам и мышам – реципиентам привела к увеличению потери костной массы у животных, стимулированных бактерией. В отличие от этого, крысы и мыши, получавшие Th2 клетки, продемонстрировали значительно меньшую потерю костной массы [241, 359, 376, 397, 406, 455]. Эти исследования показывают, что Th2 клетки опосредуют выработку специфических антител, что является ключевой особенностью защиты от деструкции пародонта.

Имеются данные о том, что при переходе от гингивита к пародонтиту и при прогрессировании пародонтита в воспалительном инфильтрате происходит изменение популяций лимфоцитов от преобладающих при гингивите Т-клеток до увеличения доли В-клеток при переходе к пародонтиту. И некоторые авторы предполагают, что восприимчивость к прогрессированию болезни могут включать преимущественно Th2 клетки, продуцирующие цитокины, необходимые для пролиферации дифференцировки В-клеток, что приводит к активации поликлональных В-клеток, производящих высокие уровни непротективных антител, а также возрастание выработки В-клетками IL-1 β . Защиту пародонта от проникновения бактерий обеспечивает преимущественно активация Th1 Т-клеток, активация врожденного иммунитета, и, при необходимости, выработка защитных антител [234, 241, 340, 371, 377, 406, 455].

Нейтрофильные лейкоциты также в большом количестве представлены в клеточных инфильтратах при пародонтите и имеют как защитные так и разрушительные свойства [294]. В зубодесневой борозде, нейтрофильные лейкоциты образуют барьер между эпителием и зубным налетом, который в норме может предотвратить бактериальное вторжение в эпителии и подлежащую соединительную ткань [23, 125]. Известно, что люди, имеющие расстройства функций нейтрофильных лейкоцитов, такие как циклическая нейтропения, синдром Чедиака - Хигаси, и синдром дефицита адгезии

лейкоцитов демонстрируют повышенную восприимчивость к пародонтиту. Отмечено, что у больных рефрактерным пародонтитом за счет снижения темпов адгезии и опсонизации нейтрофильными лейкоцитами, значительно нарушен фагоцитоз, по сравнению со здоровыми пациентами [367]. У 70% больных с ранними агрессивными формами пародонтита обнаруживаются нарушения функции нейтрофильных лейкоцитов, связанных с хемотаксисом и фагоцитозом [242, 290, 426]. Но многие исследователи, уделявшие большое внимание анализу семей с различными проявлениями ранних агрессивных форм пародонтита, не обнаружили четких корреляций с функциональными дефектами нейтрофильных лейкоцитов, что позволило им считать данные нарушения факультативными факторами риска развития ранних форм пародонтита [407].

Существуют и несколько другие концепции, объясняющие природу несбалансированного ответа хозяина на бактерии и их производные, в которых обсуждается не гипоактивность, а гиперактивность нейтрофильных лейкоцитов, что сопровождается избыточным высвобождением токсичных продуктов этими клетками и, по крайней мере, частично объясняет разрушение тканей пародонта. Респираторный взрыв является важным путем для уничтожения микробов и включает в себя генерацию супероксида, перекиси водорода, гидроксильных радикалов и, впоследствии, хлорноватистой кислоты и хлораминов. Эти ферменты отвечают за окислительное уничтожение бактерий внутри фагосомы и могут быть выделены во внеклеточное микроокружение, увеличивая окислительный стресс непосредственно в соединительной ткани десны [152, 370]. Наряду с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов, продукты, накопившиеся в результате окислительного стресса в непосредственной близости от альвеолярной кости, через активацию различных сигнальных путей включают RANKL-опосредованную резорбцию альвеолярной кости [262, 484]. Цитотоксический эффект чрезмерно активированных

нейтрофильных лейкоцитов не ограничивается чужеродными патогенами, неизбежно повреждаются собственные эндотелиальные, эпителиальные клетки хозяина. В экспериментальном исследовании установлено, что при прогрессировании пародонтита деградация коллагена в собственной пластинке слизистой оболочки десны происходила при высвобождении ферментов нейтрофильных лейкоцитов, а не бактерий. При этом активность ферментов при пародонтите на 50% превышала активность ферментов при гингивите, а также определялось значительное количество пептидных фрагментов при деградации коллагена, которые являются хемоаттрактантами для моноцитов, отмечено значительное высвобождение провоспалительных цитокинов [370, 446]. Ранее нейтрофильные лейкоциты крайне редко упоминались как существенные источники цитокинов, но за последние годы были опубликованы результаты экспериментальных исследований, которые свидетельствуют о способности нейтрофильных лейкоцитов синтезировать широкий спектр цитокинов, среди которых IL-1 β , IL-1Ra, IL-18 [367]. Как известно, данные цитокины влияют на функциональную активность самих нейтрофильных лейкоцитов и на многие другие клетки, IL-1 β обладает системным действием и важнейший медиатор местной воспалительной реакции, в том числе рекрутирует новые нейтрофильные лейкоциты в зону воспаления [61]. Есть предположения, что IL-1 β осуществляет свои эффекты в нейтрофильных лейкоцитах с помощью других цитокинов, которые выделяют мононуклеарные клетки, так же было показано, что для активации нейтрофильных лейкоцитов необходимы достаточно высокие концентрации IL-1 β [147, 422, 468]. Основным индуктором для синтеза IL-1 β нейтрофильными лейкоцитами считается бактериальные клетки и липополисахариды бактериальных мембран, а также сам IL-1 β и TNF α [139, 334, 348, 490].

Макрофаги воспалительного инфильтрата являются важными медиаторами воспаления, где они производят несколько цитокинов и также

представляют антигены Т-клеткам [150, 180, 342]. Как часть врожденного иммунного ответа к внутриклеточной инфекции они вырабатывают провоспалительные цитокины, которые усиливают фагоцитоз и в большинстве случаев приводят к успешной ликвидации возбудителя [215, 349]. Кроме того, макрофаги / моноциты способны дифференцироваться в остеокласты в ответ на TNF- α в присутствии RANKL. Это означает, что эти клетки образуют ключевую связь между иммунной системой и резорбцией костной ткани [172, 405]. Большое количество исследований подтверждает роль макрофагов/моноцитов в разрушении тканей при пародонтите.

Образцы макрофагов/моноцитов от пациентов с тяжелым пародонтитом имели более выраженную способность к разрушению коллагена, за счет выработки ММП, по сравнению с образцами от контрольной группы пациентов [342]. В ряде исследований показано, что IL-1, определяемый в пародонте пациентов, был преимущественно продуцирован макрофагами [60, 180]. Как было показано, активированные макрофаги одни из важнейших мишеней и источников секреции провоспалительных медиаторов, таких как IL-1 β , TNF α , IL-6, PGE2, способствующих разрушению компонентов соединительной ткани слизистой оболочки десны и альвеолярной кости [405]. В 1996 году было опубликовано исследование, в котором выдвинуто предположение о том, что ответная реакция нейтрофильных лейкоцитов на бактериальное воздействие не приводит к быстрой деструкции тканей пародонта и альвеолярной кости. Накопление и активация моноцитов/лимфоцитов, являющихся источником катаболических цитокинов и медиаторов воспаления, таких как IL-1, IL-6, TNF- α , и PGE2, напротив индуцирует значительную деструкцию соединительной ткани и кости [325].

Позже, при изучении патогенеза ранних форм пародонтита и пародонтита у взрослых, получены несколько противоречивые данные о характере иммунных реакций, но при этом авторы едины во мнении о ведущей роли цитокиновых процессов в разрушении опорных соединительнотканых

и костных структур. В некоторых сообщениях отмечается высокая концентрация антител к коллагену и циркулирующих иммунных комплексов при ранних формах заболевания и угнетение клеточного звена иммунитета, со снижением соотношения T4/T8 за счет уменьшения T4 и повышения T8 [172]. В более старшем возрасте в тканях десны T4 клеток больше, а T8 клеток меньше, чем у больных с ранними формами [385]. При оценке уровня цитокинов в десневой жидкости при ранних агрессивных формах пародонтита преобладают Th1 цитокины, их главные источники это макрофаги, а по другим данным при прогрессировании пародонтального повреждения активизированными оказываются Th2 лимфоциты [242, 275]. Показано, что сами моноциты могут иметь функциональные различия при различном течении пародонтита, что у более молодых пациентов проявляется дифференцировкой моноцитов в дендритные клетки [227]. При анализе профиля лимфоцитов и синтеза иммуноглобулинов плазматическими клетками у больных с различным течением пародонтита существенной разницы не обнаружено [372, 373].

Роль IL-1 β опосредованной потери альвеолярной кости, под влиянием пародонтопатогенов была подробно исследована на моделях животных и человека, и, как уже упоминалось выше, у пациентов с деструктивными заболеваниями тканей пародонта, определяется повышенный уровень IL-1 β в десневой жидкости в зонах максимальной деструкции тканей пародонта и кости. Инъекция бактериального липополисахарида (LPS) в десну животных при моделировании пародонтита значительно повышала выраженность воспалительного инфильтрата, при иммуногистохимическом исследовании определялось увеличение окрашивания для IL-1 β . Повышалось количество TRAP-положительные остеокластов, происходила потеря костной массы челюсти у животных [148, 373, 497]. Также экспрессия IL-1 β коррелирует с экспрессией прорезорбтивных цитокинов и протеиназ (MMP-1, -2 и -9 и

RANKL) при прогрессировании пародонтита и в период активной потери альвеолярной кости [210, 333].

TNF α играет важную роль в прогрессировании пародонтита, как показано во многих исследованиях, повышенную экспрессию TNF α обнаруживают в пораженных тканях пародонта, экспрессия TNF α значительно повышается в десневой жидкости на участках, где произошла потеря прикрепления десны и костной ткани [211, 252, 295, 495]. У экспериментальных животных при моделировании тяжелого пародонтита, индуцированного LPS *A. actinomycetemcomitans* отмечено увеличение выраженности воспалительного клеточного инфильтрата, значительное увеличение в тканях TNF α , и выявлено большое количество TRAP-позитивных остеокластов [148]. Связь между продукцией TNF α и резорбцией альвеолярной кости при пародонтите была установлена при ингибировании экспрессии TNF α или рецептора для него, а введение рекомбинантного TNF α вызывало ускорение прогрессирования пародонтита у крыс [293]. Также удалось снизить индуцированный *P. gingivalis* остеокластогенез у мышей, дефицитных по рецептору к TNF, по сравнению с животными дикого типа, тем самым подтверждая, что активация остеокластов по TNF α регулируемому пути является частью ответа организма хозяина при пародонтите [293, 482]. В другом эксперименте у дефицитных по рецептору TNFR-1 к TNF α мышей установлено значительно менее выраженное воспаление в тканях пародонта, была снижена экспрессия рецепторов хемокинов и хемокинов, зафиксирована минимальная резорбция альвеолярной кости в сочетании со снижением экспрессии RANKL при воздействии *A. Actinomycetemcomitans* антигеном, по сравнению с контрольной группой животных дикого типа. У этих животных отмечалась интенсивная миграция нейтрофильных лейкоцитов в ткани десны, повышенная экспрессия MMP- 1,-3,-13 и циклооксигеназы-2 (COX-2) [205, 228]. Экспрессия MMP-1, -2, -9 и RANKL коррелировала с экспрессией TNF α в период интенсивных воспалительных изменений и потери альвеолярной

кости [210]. Количественный анализ экспрессии матричной РНК воспалительных цитокинов IL-1 β , IFN- γ и RANKL в тканях десны показал, что их уровень был значительно ниже у нокаут-мышей, по сравнению с диким типом инфицированных мышей. Похожие результаты были зафиксированы при использовании растворимого антагониста TNF α . Следует отметить, что использование растворимого антагониста TNF α приводило к повышению уровня бактерий на фоне меньшей резорбции кости, а добавление экзогенного TNF α прямо коррелировало с разрушением альвеолярной кости [280, 455]. В эксперименте у мышей, привитых *A. actinomycetemcomitans*, оценивали экспрессию цитокинов и характер воспалительного инфильтрата в динамике по мере изменения темпов резорбции альвеолярной кости. Было установлено, что при формировании и нарастании воспалительного клеточного инфильтрата происходило увеличение концентрации провоспалительных цитокинов, MMP и RANKL это сопровождалось прогрессивной потерей альвеолярной кости. В более поздний период наблюдения концентрации провоспалительных цитокинов, MMP и RANKL несколько уменьшилась, и произошло значительное увеличение концентрации IL-4 и IL-10, ингибиторов тканевых металлопротеиназ (TIMPs) и остеопротегерина (OPG). Потеря массы альвеолярной кости коррелировала с характером экспрессии цитокинов, экспрессия RANKL была повышена в начальном периоде исследования, а в более поздний период максимальной была концентрация OPG, и это совпало с замедлением потери кости [168, 359, 401, 402, 405, 443]. Таким образом, зная, как связаны уровень продукции цитокинов TNF α , IL-1 β , IL-4 с резорбцией кости, и как проявляются полиморфизмы генов, кодирующих данные цитокины, можно предполагать характер протекания процесса воспаления при поражении тканей пародонта у людей с разными генетическими характеристиками, тем самым реализовать принципы персонализированной медицины.

Термин «Персонализированная Медицина» впервые появился в 1998 году в работе американского ученого Кевала Джейна и был связан

непосредственно с молекулярной биологией. Сама концепция персонифицированной медицины активно обсуждается учеными многих стран с начала 2000 годов, когда было закончено прочтение генома человека. Одними из первых проводились исследования и были получены доказательства генетически обусловленных особенностей метаболизма различных химических соединений и лекарственных препаратов [8, 9, 87, 88, 115, 274, 321, 492].

Основные направления персонифицированной медицины это персонифицированная профилактика, персонифицированная диагностика и лечение различных патологических состояний. Самым изучаемым направлением в мире является определение наследственной предрасположенности к социально-значимым болезням (онкологическим, иммунодефицитным состояниям, инфаркт миокарда, инсульт) [417]. Проводятся исследования по определению чувствительности к таким повреждающим факторам, как ионизирующее излучение, наркотические вещества, алкоголь. Предполагается, что появится возможность при выявлении какого-либо риска на основании генетического тестирования – дать персонифицированные рекомендации по предупреждению заболеваний, в виде более частого проведения диспансерных осмотров с проведением скрининговых тестов [257]. Для реализации персонифицированной диагностики изучаются разнообразные биомаркеры на основании которых создаются системы тестов. Конечно, молекулярная диагностика особенно востребована при определении форм рака, в данном направлении имеются серьезные достижения зарубежных и отечественных исследователей [353]. По данным ВОЗ, Эффективность лекарственной терапии низка у 40% больных при стандартных подходах к лечению ряда заболеваний. В данном направлении предполагается на основании генетического тестирования осуществлять подбор лекарственных средств и их дозировок при лечении ревматологических, кардиологически, онкологических больных.

На сегодняшний день в современной парадигме прогнозирования в пародонтологии учитываются генетические характеристики пациента, а именно принято выполнять тест на полиморфизм интерлейкина – 1 [30]. Сами принципы использования результатов теста основываются на утверждении, что ответ макроорганизма на воздействие бактерий модифицируется повышенной продукцией цитокинов при наличии полиморфизма в кластере гена *IL-1*, что приводит к более выраженной активности матричных металлопротеиназ и простагландина E₂, определяя более выраженное разрушение соединительной ткани и кости [225, 281, 466]. По этим данным было характерно наличие положительных тестов для 78% случаев развития тяжелых форм заболевания и в 86% у курящих пациентов [460]. Группа других исследователей рассчитала риск развития тяжелых форм болезни с учетом курения у лиц с положительным генотипом в 5 раз выше, чем у лиц с негативным генотипом [477]. При оценке степени потери костной ткани и уровня продукции IL-1 и уровнем десневой жидкости обнаружена прямая корреляция [259, 395]. Позднее были опубликованы исследования, которые убедительно продемонстрировали невозможность выявления больных с повышенным уровнем IL-1 по каким-либо клиническим проявлениям и только по данным об утрате зуба, как маркера прогрессирования пародонтита, были получены данные, что лишь 39% от числа пациентов имели положительный генотип [191]. Когда при исследовании возможностей тканей к регенерации при нормальном и повышенном уровнях IL-1 было показано у больных с повышенным уровнем IL-1 оказались разрушены более 70% опорных тканей, а у лиц с нормальным уровнем IL-1 состояние тканей сохранялось стабильным более четырех лет, и на основании ряда подобных проспективных исследований, пришли к выводу о том, что генетический полиморфизм является прогностическим фактором риска, который следует учитывать при прогнозировании для больных пародонтитом [248, 252, 466, 468]. В настоящее время для получения прогноза принято анализировать ряд клинических показателей таких как подвижность зубов, наличие дефекта фуркации,

соотношение длины коронка/корень, % потери кости, наличие парафункций жевательной мускулатуры, наклон зуба, курение и качество гигиены полости рта.

Анализ литературных данных о реализации воспаления у больных пародонтитом на структурном уровне с оценкой клеток воспалительного инфильтрата, которые являются непосредственным источником и/или мишенью для цитокинов, а также популяции эпителиальных клеток, реагирующих опосредованно, убеждает нас в необходимости учитывать эти данные при прогнозировании в пародонтологии. Ежедневно практикующие врачи принимают решения в отношении возможности сохранения или удаления зубов, планируют протезирование у больных пародонтитом, составляя прогнозы как для отдельных зубов, так и для всей зубочелюстной системы, основываясь на большом количестве различных клинических данных. Существуют подходы, согласно которым требуется сопоставление рисков при лечении и прогноза лечения и они складываются из пародонтальных, биомеханических, функциональных параметров [233, 267, 271, 329, 339, 369]. Возможность уточнить прогноз приведет к получению более предсказуемых результатов для выживаемость каждого зуба и повышению эффективности лечения больных пародонтитом.

Из клинических наблюдений известно, что реализация воспалительного ответа различается, иногда существенно, по времени начала, интенсивности и продолжительности проявлений, скорости разрушения мягких и твердых тканей: у некоторых больных - более остро, агрессивно, у других - имеет затяжной характер, незначительные клинические проявления и течет десятилетиями. Изучение основ гетерогенности пародонтита в популяции, установление генетической основы межиндивидуальных различий в характере иммунного ответа на воздействие бактерий биопленки путем установления взаимосвязи клинических проявлений, морфологических характеристик (иммунофенотипа клеток) воспалительного инфильтрата в тканях десны и полиморфизма генов воспалительных цитокинов позволит расширить знания

об иммунной регуляции хронического воспаления, клеточного обновления слизистой оболочки десны при пародонтите. Получение ответов на эти вопросы представляет и практический интерес для обоснования и уточнения долгосрочного прогноза для каждого зуба и для болезни, позволит реализовать персонафицированный подход в диагностике, прогнозировании и терапии больных хроническим генерализованным пародонтитом и, как главная цель - повысить качество их лечения.

ГЛАВА 2

ОРГАНИЗАЦИЯ, МЕТОДЫ И ИСХОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Организация исследования

На клинических базах ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет Минздрава РФ» (Омск, Россия) (в терапевтическом и терапевтическом пародонтологическом отделениях ГКСП №1 города Омска, академической клинике ОмГМУ) было организовано научное исследование с участием 154 больных хроническим генерализованным пародонтитом (66 мужчин, 88 женщин) и 150 добровольцев (98 мужчин, 52 женщин) - условно здоровых лиц без признаков воспаления тканей пародонта. Исследование выполнено с позиций медицины, основанной на доказательствах, с соблюдением требований, установленных Хельсинской декларацией, Кодексом врачебной этики Российской Федерации и Национальным стандартом Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» (GCP) ГОСТ Р 52379-2005, на условиях, определяемых российским законодательством об охране здоровья граждан [98, 114].

В исследование включали дееспособных граждан Российской Федерации, свободно владеющих устным и письменным русским языком, осознанно подписавших добровольное информированное согласие участника исследования. Текст добровольного информированного согласия составлен в соответствии с «Международными этическими правилами для биомедицинских исследований с включением человека», «Конвенции о защите прав и достоинства человека в связи с использованием достижений биологии и медицины» [66, 78, 118].

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Государственного образовательного учреждения «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» протокол № 51 от 10.10 2006 г.

2.1.1 Тип исследования

Открытое когортное проспективное сравнительное с элементами ретроспективного анализа.

2.1.2 Критерии включения, исключения и досрочного прекращения исследования для участников основной выборки

В исследование приняли участие лица, проживающие на территории юга Западной Сибири в возрасте от 36 до 62 лет, больные хроническим генерализованным пародонтитом различной степени тяжести, имеющие не менее 20 зубов на момент первого обследования, которые не получали пародонтологического лечения в течение года и более до обращения. Все пациенты, принявшие участие в исследовании, родились и были жителями города Омска, характеризовались сходными условиями жизни, свободно владели устным и письменным русским языком.

В исследование не включали больных пародонтитом, страдающих тяжелой соматической патологией в стадии декомпенсации.

Участие в исследовании лица, ранее выразившего в письменной форме информированное согласие на него и включённого в выборку, незамедлительно прекращалось на любом этапе исследования при решении исследователя, если продолжение участия в исследовании становилось нежелательным для данного участника либо при отказе участника от продолжения участия в исследовании.

2.1.3 Дизайн, структура и программа исследования

Из удовлетворяющих критериям включения больных сформирована когорта из 154 больных хроническим генерализованным пародонтитом (27 пациентов с легкой степенью тяжести пародонтита, 66 пациентов имели среднюю степень тяжести пародонтита, 61 пациент - тяжелую степень тяжести пародонтита на момент первого обследования). Все обследованные пациенты находились на лечении и под наблюдением на базе кафедры терапевтической стоматологии ОмГМА в терапевтическом и терапевтическом пародонтологическом отделениях ГКСП №1 города Омска, академической

клинике ОмГМА. Каждый пациент получал подробную информацию о проводимом исследовании, предстоящем лечении и давал добровольное информированное согласие на обследование, базовое лечение и участие в исследовании.

Объектами исследования также были 802 биоптата десны, полученных на этапах обследования и лечения пациентов, 88 образцов материала для микробиологического исследования (44 пациента до и после базового курса лечения), венозная кровь 150 больных пародонтитом и 150 доноров популяционной выборки (условно здоровые лица без признаков воспаления тканей пародонта).

После формирования когорты (первая исследовательская точка) и начала проведения этапов базового курса терапии, динамическое наблюдение за больными проводилось в пяти контрольных точках: через 14 дней от начала терапии (вторая исследовательская точка), через 1 месяц от начала терапии (третья исследовательская точка), через 3 месяца от начала терапии (четвертая исследовательская точка), через 2 месяца после завершения базового курса терапии (пятая исследовательская точка (5 месяцев от начала терапии)), через 12 месяцев после базового курса терапии (шестая исследовательская точка (15 месяцев от начала терапии)). Дальнейшее клиническое наблюдение за группой больных продолжалось 5 лет от первой исследовательской точки.

Всем обследованным пациентам было показано и проведено базовое лечение (противомикробное фармако - механическое лечение с элементами терапевтического, хирургического, ортопедического и ортодонтического лечения – по индивидуальным показаниям). Первым этапом в базовом лечении пациентов был подбор средств гигиены полости рта, обучение гигиене полости рта, механическое удаление наддесневых зубных отложений с последующей антисептической обработкой и одновременным контролем полученных гигиенических навыков, некоторым пациентам по индивидуальным показаниям было выполнено лечение, удаление зубов, временное шинирование зубов, изготовлении временных замещающих

протезов. После этого проводилась регистрация показателей состояния полости рта (через 14 дней - вторая исследовательская точка). Далее было продолжено антимикробное лечение, которое включало удаление поддесневых зубных отложений, грануляционной ткани, шлифовку и полировку корней зубов, обработку пораженных фуркаций зубов, медикаментозную антисептическую обработку, контроль гигиенических навыков пациентов, некоторым пациентам по индивидуальным показаниям было выполнено лечение, удаление зубов, временное шинирование зубов, изготовлении временных замещающих протезов. После этого проводилась регистрация показателей состояния полости рта (через 1 месяц от начала лечения - третья исследовательская точка). Дальнейшие лечебные манипуляции заключались в устранении ретенционных пунктов для фиксации зубной бляшки (кариозные полости, некачественные реставрации и ортопедические конструкции), коррекции аномалий прикрепления уздечек губ, щечных тяжей, мелкого преддверия полости рта, временном шинировании зубов, изготовлении временных замещающих протезов, контроле гигиенических навыков. После окончания данных манипуляций проводилась регистрация показателей состояния полости рта (через 3 месяца от начала лечения - четвертая исследовательская точка).

Далее было продолжено проспективное исследование, все пациенты распределились на две группы (основную и группу сравнения). Разделение пациентов на группы произошло по следующему принципу: в основную группу из 75 пациентов вошли лица, которые по разным причинам, не дали согласие на хирургическое лечение, а в группу сравнения также из 75 пациентов вошли лица, которые дали согласие на проведение хирургического этапа лечения, который, в среднем, занял 2 месяца. Таким образом, все пациенты находились под динамическим наблюдением после окончания базового курса терапии, а клиническая оценка состояния тканей пародонта у них была проведена через 2 (пятая исследовательская точка (5 месяцев от начала терапии и после завершения хирургического этапа лечения)) и 12

(шестая исследовательская точка (15 месяцев от начала терапии)) месяцев. Дальнейшее клиническое наблюдение за группой больных продолжалось 5 лет от шестой исследовательской точки, что позволило оценить качество сделанного для них прогноза течения болезни.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Исследование стоматологического статуса

Клиническое обследование включало: выявление жалоб больного, сбор анамнеза, осмотр полости рта, рентгенологическое исследование. Изучение пародонтологического статуса проводили по общепринятой методике. Для оценки гигиенического статуса применяли упрощенный индекс гигиены (ИГР-У) (Green-Vermilion, 1964). Для визуализации налета использовали ревелаторы (раствор Люголя, эритрозин, метиленовый синий). Рассчитывали пародонтальный индекс Рассела (Russel, 1956). Тяжесть и распространенность гингивита оценивали при помощи индекса ПМА (PMA Shour., I Massler., 1947 в модификации Parma, 1964). Индекс кровоточивости десны оценивали ИК (PBI) (Muhlemann - Saxer, 1971). Определяли подвижность зубов по шкале Миллера в модификации Флезара (Flezar, 1980), цвет и плотность десны, рецессию десневого края (P.D. Miller, 1985). Оценивали глубину преддверия полости рта (до 4 мм – мелкое, характеризуется наличием узкой зоны прикрепленной десны и её сочетание с уздечкой губы (тяжа), требующих коррекции; до 10 мм – среднее, характеризуется нормальным соотношением отделов десны и уровня прикрепления уздечки (тяжа) не требующих коррекции; более 10 мм – глубокое), высоту прикрепления уздечек верхней и нижней губы, уровень прикрепления щечных тяжей слизистой оболочки полости рта, вид окклюзии, глубину пародонтального кармана. Для определения уровня и характера резорбции костной ткани (горизонтальный, вертикальный, с формированием внутрикостных карманов, и смешанный тип резорбции) выполняли рентгенологическое исследование (внутриротовая рентгенография, ортопантомография, радиовизиография, конусно-лучевая компьютерная томография - КЛКТ). Для оценки степени тяжести

деструктивных процессов в кости рассчитывали костный показатель показатель Фукса (Fuchs, 1946г), оценивали утрату опорной кости относительно возраста пациента, относительную скорость утраты опорной кости рассчитывали, как отношение утраты кости в % (по Fuchs) к давности болезни, состояние твердых тканей зубов характеризовали по индексам КПУ и КПУП.

После проведения клинического обследования, а так же на основании жалоб, пациенты распределялись на группы, соответственно тяжести заболевания согласно клинической классификации болезней пародонта (1983 год, редактированной секцией пародонтологии Российской академии стоматологии, 2001 г.). Степень выраженности клинических признаков воспаления в полости рта и некоторых лабораторных показателей ранжировали по принципу - выражен «сильно», «умеренно», «слабо» (таблица 1).

Забор материала для микробиологического исследования проводился из пародонтального кармана, со слизистой оболочки рта, с миндаины и в 1 мл слюны. Посев материала выполнялся на стандартные микробиологические среды с последующим выделением чистой культуры микроорганизмов. Морфологические и тинкториальные признаки штаммов определялись при окрашивании мазков по Грамму, количественное исследование микрофлоры оценивалось в колониеобразующих единицах в перечислении на КОЕ/мл, биохимическая активность оценивалась по общепринятым методикам в лаборатории клинической микробиологии академическом центре лабораторной диагностики ОмГМА и медицинской лаборатории ОМТЕСТ г. Омска. Оценивали степень дисбиоза в полости рта у больных (по критериям Хазановой В.В., 1996 г.). Определение содержания цитокинов в периферической крови выполняли иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест-систем «Вектор-Бест», согласно инструкции производителя в академическом центре лабораторной диагностики ОмГМА.

Т а б л и ц а 1 - Выраженность клинических и лабораторных признаков воспаления в полости рта у больных пародонтитом

Исследуемый признак	Степень выраженности признака		
	Сильно	Умеренно	Слабо
Кровоточивость десен при малых механических воздействиях	При чистке зубов, приеме пищи, часто самопроизвольно, привкус крови во рту	При чистке зубов, приеме грубой пищи	В некоторых зонах при чистке зубов или не определяется
Признаки воспаления в полости рта	Отек межзубных сосочков, боль, зуд в деснах, гноетечение из пародонтальных карманов, частое абсцедирование	Отек межзубных сосочков, гноетечение из некоторых пародонтальных карманов	Ощущение незначительного дискомфорта в некоторых зонах десны
Частота обострений в году	3 и более раз в году	2 раза в году	1 и менее в году
Изменение общего состояния в период обострения	Сопровождается повышением температуры тела, болью в суставах, снижением аппетита	Иногда сопровождается общим недомоганием	Общее состояние не меняется
Относительная скорость резорбции кости	(Отношение утраты кости в % по костному показателю Fuchs к давности заболевания)		
	От 6% и более в год (быстрая)	От 3% до 6% в год (умеренная)	До 3% в год (медленная)
Характер деструкции опорной кости (по данным лучевой диагностики)	Неравномерная, сочетание угловых и горизонтальных дефектов, дефекты фуркаций, есть зоны с нарушением замыкательных пластинок	Сочетание угловых и горизонтальных дефектов в отдельных зонах челюстей, дефекты отдельных фуркаций, замыкательные пластинки сохранены	Равномерная, преимущественно горизонтальные дефекты, замыкательные пластинки сохранены

2.2.2 Морфологические методы исследования

Исследование проводилось в лаборатории на кафедре патологической анатомии с курсом клинической патологии ГОУ ВПО ОмГМА. Биоптаты десны фиксировали 14-18 часов в 10%-ном растворе формалина, приготовленном на фосфатном буфере (рН 7,2-7,4). Проводку материала осуществляли по общепринятой методике. Перед заливкой в парафин Histomix кусочки ориентировали с целью получения срезов перпендикулярных к поверхности слизистой оболочки. С одного блока готовили 15-20 предметных стекол с серийными срезами. Срезы толщиной 4 мкм помещали на стекла обработанные поли-L-лизином. Окрашивали гематоксилином Майера и эозином. В биоптатах слизистой оболочки десны оценивали степень выраженности воспалительных изменений по субъективным критериям с учетом клеточного состава и доминирующей локализации в пределах эпителиального компартмента и собственной пластинки слизистой оболочки десны (таблица 2).

Т а б л и ц а 2 - Степень выраженности воспалительных изменений в компартментах слизистой оболочки десны больных хроническим генерализованным пародонтитом с учетом клеточного состава и доминирующей локализации

Степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами		
Слабая	Умеренная	Выраженная
Минимальное количество нейтрофильных лейкоцитов в компартментах слизистой оболочки десны	Диффузная инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны, без признаков массивного разрушения	Инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны с фокальными некрозами и формированием микроабсцессов
Степень инфильтрации мононуклеарными клетками		
Слабая	Умеренная	Выраженная
Скудный инфильтрат в собственной пластинке слизистой оболочки десны, чаще вокруг сосудов	Плотный диффузный мононуклеарный инфильтрат	Плотный диффузный инфильтрат, имеются скопления клеток, напоминающие лимфоидные фолликулы

Микроскопия биоптатов и фотографирование наиболее показательных полей зрения осуществляли на фотомикроскопе CarlZeiss, Germany (Axioskop 40, AxioCamMRC 5).

использовали для обработки не более 20 стекол. После промывания срезов в дистиллированной воде (5 минут) и помещения их в трис-буфер на 5 минут с целью повышения специфичности реакции проводили демаскировку антигенов в водяной бане при температуре 900 -950 С в течение 45 минут. Давали срезам остыть до комнатной температуры, помещая их в трис-буфер на 20-25 минут.

С целью уменьшения фона и снижения неспецифического окрашивания осуществляли блокирование эндогенной пероксидазы 3%-ным раствором перекиси водорода в течение 5 минут и обработкой протеин-блоком - 20 минут. В дальнейшем проводили инкубацию с первичными антителами - 60 мин (370С), после которой срезы помещали в трис-буфер – 3 порции по 5 мин. Затем срезы обрабатывали вторыми (биотилинированными) антителами - 20 минут и инкубировали со стрептавидин-биотин-пероксидазным комплексом в течение 20 минут. Дальнейшая окраска хромогеном осуществлялась под визуальным контролем в течение 5-30 минут.

Т а б л и ц а 3 - Панель антител, использованных в работе

Маркер	Клон (производитель)	Биологическая роль
Ki67	MIB-1("DakoCytomation")	Ядерный маркер пролиферации
P53	DO-7 ("DakoCytomation")	Ядерный маркер повреждения ДНК
CD4	1F6 («Diagnostic Bio Systems»)	Маркер Т-лимфоцита-хелпера
CD8	144B («Diagnostic Bio Systems»)	Маркер Т-лимфоцит-киллер
CD20	L26("DakoCytomation")	Маркер В-лимфоцита
CD68	PG-M1 ("DakoCytomation")	Маркер макрофагов/моноцитов
CDRO45	PG-M1 ("DakoCytomation")	Маркер Т-лимфоцит-памяти

Экспрессию вышеуказанных маркеров исследовали по характеру распределения метки в различных отделах десны, субъективно оценивали интенсивность метки. Для получения объективных данных использовали

морфометрические методы. В биоптатах обработанных иммуногистохимическим методом при увеличении 640 случайным образом выбирали 6-10 полей зрения и подсчитывали количество позитивно окрашенных клеток. Полученные значения пересчитывали на 1 мм² среза. В качестве докраски использовали гематоксилин Майера.

2.2.4 Морфометрические методы.

С целью повышения объективности оценки степени выраженности акантоза вычисляли удельный объем многослойного плоского эпителия (Vv). Для этого применяли окулярную вставку в виде квадратной сетки на 100 единиц, шагом 0,01мм. Принимая узлы сетки за точки, подсчитывали количество точек попавших на акантотические тяжи к общему числу точек попавших на препарат при увеличении 140 в 8 полях зрения. В биоптатах обработанных иммуногистохимическим методом при увеличении 340 случайным образом выбирали 6-10 полей зрения и подсчитывали количество позитивно окрашенных клеток. Полученные значения пересчитывали на 1 мм² среза.

2.2.5 ПЦР-метод. Исследование полиморфизма генов цитокинов.

Генетический метод исследования (метод полимеразной цепной реакции) применяли для исследования полиморфизма следующих генов *IL-1 β* (*IL-1 β C-511T, C+3953T*), рецепторного антагониста интерлейкина-1 (*IL-1RN VNTR во 2 интроне*), фактора некроза опухолей- α (*TNF- α G-308A*), интерлейкина-4 (*VNTR в 3 интроне IL-4*) в лейкоцитах периферической крови.

Проводился забор венозной крови (4-5 мл) с антикоагулянтом и последующим получением взвеси лейкоцитов, из которой выделяли ДНК методом фенол-хлороформной экстракции с этанольным осаждением (Johns M., Paulus-Thomas J., 1989). Для определения полиморфных локусов *C+3953T, C-511T* гена *IL-1 β* и *VNTR*-полиморфизма во 2 интроне гена *IL-1RN* использовали коммерческие наборы, производимые Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Для определения полиморфных локусов *G-308A* гена *TNF- α* и *VNTR*-

полиморфизма в 3 интроне гена *IL-4* использовались наборы «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», Москва). Этапы выделения, амплификации ДНК, рестрикции и детекции продуктов амплификации выполнялись в соответствии с требованиями, указываемыми производителем. Этап амплификации выполнялся на термоциклере «Терцик» (ДНК-технология, Москва). Исследование выполнено в лаборатории кафедры патологической анатомии Омской государственной медицинской академии с участием д.б.н. профессора Поморгайло Е.Г.

Т а б л и ц а 4 - Полиморфные сайты генов цитокинов, которые изучались в данной работе

Ген	Хромосома	SNP, VNTR	Идентификатор db SNP	Эффекты цитокина
<i>IL-1β</i>	2g13	<i>C-511T</i>	rs 16944	Провоспалительный цитокин. Активирует Т-лимфоциты, остеокласты, ММП
<i>IL-1β</i>	2g13	<i>C+3953T</i>	rs 1143634	
<i>IL-1RN</i>	2g14.2	VNTR (интрон 2)	rs 2234663	Конкурентно блокирует рецептор для <i>IL-1β</i> , не вызывает биологических эффектов
<i>TNFα</i>	6p 21.3	<i>G-308A</i>	rs 1800629	Активирует остеокласты, ММП, экспрессию HLA II антигенпрезентирующими клетками, повышает экспрессию молекул межклеточной адгезии
<i>IL-4</i>	5g 31.1	VNTR (интрон 3)	rs 79071878	Снижает продукцию провоспалительных цитокинов, способствует дифференцировке В-лимфоцитов и продукции антител

2.3 Статистические методы исследования

Статистические данные представляют собой наблюдаемые или измеряемые значения одного или нескольких признаков обследуемой совокупности объектов. Статистические инструменты данного исследования

включает унифицированные методы и способы, применяемые в медицинских и медико-биологических исследованиях [76, 77, 136].

2.3.1 Методы описательной статистики.

Анализ данных начинали с проверки нормальности распределения вероятности случайных величин в сравниваемых группах. При нормальном типе распределения (средняя арифметическая (M) и медиана (Me) отличались меньше, чем на 10%) в качестве основных характеристик описательной статистики использовались средняя (μ) и стандартное отклонение (δ), отражающие центральную тенденцию и вариабельность значений выборки. В том случае, если распределение отличалось от нормального (разница M и Me составляла более 10%), указывались Me , нижний 25-й (L) и верхний 75-й (H) квантили [7, 34, 92, 136].

2.3.2 Методы вариационной статистики.

Для анализа достоверности различий между группами использовали следующие критерии. При нормальном распределения использовали параметрические критерии: парный t - критерий для двух связанных выборок (группа пациентов до и после проведения противомикробной терапии) и t - критерий для двух независимых выборок (опытные и контрольная группы до лечения). Для сравнительной оценки переменных 3-х групп вводился поправочный коэффициент Бонферони, который составил 1,7% (критический уровень значимости – 5% / количество независимых групп сравнения - 3). В случае, если распределение отличалось от нормального использовались непараметрические критерии: категориальные данные – критерий хи-квадрат (χ^2) с поправкой на непрерывность Йэйтса для таблицы сопряженности 2x2, числовые данные – U -критерий Манна – Уитни для 2-х независимых выборок (опытные и контрольная группы до лечения) и критерий Фридмана (F) для оценки более чем 2-х переменных в согласованных выборках, критерий ранговых сумм Вилкоксона – для 2-х связанных выборок (группа пациентов до и после проведения противомикробной терапии). При множественном сравнении (3 группы) применялся непараметрический критерий Данна. Для

анализа достоверности различий между переменными использовали: метод альтернативного варьирования при сравнении альтернативных переменных (долей признака). Для корреляционного анализа степени связи между двумя переменными использовали коэффициент корреляции Пирсона (r - для статистической корреляции) и коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ) [7, 34, 92].

Распределение наблюдаемых частоты аллелей и генотипов генов *IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4* в исследуемой и контрольной группах соответствовало теоретически ожидаемым по закону Харди - Вайнберга. Оценка соответствия распределению Харди - Вайнберга проводилась при помощи калькулятора, доступного по электронному адресу: <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.

Для расчетов и построения статистических графиков использован статистический пакет Microsoft Excel 2007 для операционной системы Windows XP, а также статистические программные пакеты BIOSTAT (Primer of Biostatistics, version 4.03) и SPSS 11.5.

2.4 Исходная характеристика участников исследования

В исследовании приняли участие 154 пациента больных хроническим генерализованным пародонтитом. 127 из них – это лица молодого и зрелого трудоспособного возраста, имевшие среднюю и тяжелую степень пародонтита (таблица 5). Только в 17% случаев нами была зафиксирована легкая степень тяжести заболевания. Все пациенты были в возрасте от 36 лет и в соответствии с классификатором ВОЗ для международных сравнений, приведенным в международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем десятого пересмотра, разделены по возрастным группам. Из обследованных пациентов относились к возрастной группе 36-44 года (молодой возраст по классификации ВОЗ) 40,2%: почти все пациенты с легкой степенью тяжести пародонтита, около трети пациентов со средней и тяжелой степенью тяжести заболевания.

Т а б л и ц а 5 - Частота встречаемости различной степени тяжести генерализованного пародонтита в группе пациентов, распределение по возрасту, полу и давности болезни

Степень тяжести пародонтита группа пациентов	Легкая		Средняя		Тяжелая		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%
		27	16,8	66	42,9	61	40,3	154
Возраст в группе	n	%	n	%	n	%	n	%
36-44 года	20	12,9	23	14,9	19	10,4	62	40,2
45-59 лет	7	4,5	37	24,1	36	26,0	80	52,0
60 -62 года	-	-	6	3,9	6	3,9	12	7,8
Пол пациентов	n	%	n	%	n	%	n	%
женщины	16	10,4	38	24,7	33	21,4	88	56,5
мужчины	11	7,1	28	18,2	28	18,2	66	43,5
Давность болезни	n	%	n	%	n	%	n	%
До 5 лет	22	14,3	12	7,8	-	-	34	22,0
От 5 до 10 лет	5	3,3	29	18,8	18	11,7	52	33,8
Более 10 лет	-	-	25	16,2	43	27,9	68	44,2

Из 80 пациентов возрастной группы 45-59 лет (зрелый возраст по классификации ВОЗ) у 7 зафиксирован пародонтит легкой степени, остальные пациенты имели более выраженную степень деструкции пародонта (среднюю и тяжелую). В возрастной группе 60 лет и старше было 12 пациентов (от 60 до 62) лет со средним и тяжелым пародонтитом. В исследовании приняли участие 88 женщин и 66 мужчин.

По результатам клинического обследования и анализа анамнестических данных больных всей группы, 22,0% пациентов, у которых определялась легкая и средняя степень тяжести пародонтита считали себя больными около 5 лет. Пациенты с тяжелой степенью пародонтита отметили, что болеют около 10 лет и более. В нашем исследовании 7,8% больных имели среднюю степень поражения пародонта, при этом считали себя больными около 5 лет.

Анализируя анкетные данные обследованных пациентов, установлено, что у 65% пациентов имеются ближайшие родственники с воспалительными заболеваниями пародонта, у 35% из группы больных пародонтитом ни родители, ни другие члены семьи, не страдали данным заболеванием, к данной группе были отнесены также пациенты, затруднившиеся предоставить информацию о стоматологическом здоровье своих близких (таблица 6).

Т а б л и ц а 6 - Частота выявления факторов общего риска, согласно данным о наследственном характере заболевания

Изучаемый признак \ Степень тяжести пародонтита	Легкая		Средняя		Тяжелая		Всего	
	п	%	п	%	п	%	п	%
Отмечается у одного или обоих родителей, братьев, сестер	17	11,0	43	27,9	40	25,9	100	65,0
Не отмечается среди родственников, членов семьи, или нет информации об их здоровье	10	6,5	23	14,9	21	13,7	54	35
Всего	27		66		61		154	100

К системным факторам организма, увеличивающим риск развития заболевания пародонта, относят системные заболевания, курение, стресс, прием лекарств и др. Имеются многочисленные литературные данные, свидетельствующие о взаимосвязи воспалительных поражений пародонта с заболеванием желудочно-кишечного тракта, сердечнососудистой, эндокринной и других систем организма. При обследовании группы пациентов нами учитывались данные о наличии общих соматических заболеваний, приеме лекарственных препаратов для выявления побочных эффектов медикаментов. Учитывали курение, с обязательным уточнением дозы, так как степень влияния данного негативного фактора признана легкой для выкуривающих до 5 сигарет в день, и высокой - для употребляющих более 20 сигарет в день. Источником подробной информации об общем состоянии

здоровья пациентов послужили медицинские документы, анкеты для пациентов и устные анамнестические данные (таблица 7).

Т а б л и ц а 7 - Частота выявления факторов общего риска - наличие общих заболеваний и вредных привычек в группе больных хроническим пародонтитом

Поражение систем организма \ Степень тяжести пародонтита	Легкая		Средняя		Тяжелая		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Хронические воспалительные заболевания ЖКТ	3	1,9	8	5,2	6	3,9	17	11,0
Заболевания ССС	2	1,3	7	4,6	5	3,2	14	9,1
Хронические воспалительные заболевания респираторной системы	14	9,1	15	9,7	8	5,2	37	24,0
Сочетание поражений 2-х систем организма	7	4,5	12	7,8	24	15,6	33	21,4
Заболевание 3-х и более систем организма	-		23	14,9	19	12,3	42	27,2
Не отмечают заболеваний	2	1,3	-		-		2	1,3
Курильщики	9	3,7	20	13,0	15	9,7	44	28,6
Всего	27		66		61		154	100

Согласно полученным данным, у 14 (9,1%) пациентов с легкой степенью тяжести пародонтита выявлены заболевания респираторных органов (хронический верхнечелюстной синусит, хронический тонзиллит, хронические обструктивные болезни легких, частые острые вирусные респираторные заболевания). У 7 (4,5%) больных данной группы поражения респираторных органов сочетались с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, сердечнососудистой системы, аллергическими проявлениями и 2 (1,3) пациента не имели перечисленных общих болезней. Выкуривали более 20 сигарет в день 9 пациентов с легким пародонтитом. У больных со средней и тяжелой степенью пародонтита чаще выявлялось сочетание поражений двух, трех и более систем организма. В среднем, в группе обследованных лиц, около 11% пациентов имели поражение желудочно-кишечного тракта, четверть пациентов – хронические заболевания респираторных органов и у половины

(48,6%) больных пародонтитом отмечалось сочетание поражений 2-х, 3-х и более систем организма и чаще сочеталось со средним и тяжелым поражением тканей пародонта.

К местным факторам, влияющим на развитие и течение воспаления в пародонте, относят травмирующую окклюзию, ротовое дыхание, наличие множественных ретенционных пунктов для бактериального налета (кариозные полости, некачественные реставрации, ортопедические конструкции), состав и свойства ротовой жидкости. В процессе обследования группы пациентов нами выявлены мелкое преддверие полости рта (зона прикрепленной десны 4 мм и менее), высокое прикрепление и аномальное количество соединительнотканых уздечек и тяжей щек и губ, другие вторичные мягкотканые деформации, в среднем, в 46,7% случаев. С прогрессированием пародонтита у больных, процент пациентов с наличием данных признаков повышается. Следующий изучаемый признак - «зубочелюстные аномалии», включал первичные и вторичные деформации. Из первичных аномалий встречались мезиальная, дистальная окклюзия, чрезмерное вертикальное перекрытие, открытый прикус и аномалии положения отдельных зубов, чаще – скученное положение зубов. Из вторичных деформаций отмечались: веерообразное расхождение зубов нижней и верхних челюстей, горизонтальное и вертикальное смещение отдельных зубов, отсутствие зубов. Подобные признаки определялись у 67 (43,5%) пациентов. Количество пациентов, у которых имелись ортопедические конструкции (одиночные коронки, мостовидные протезы, съемные протезы различной конструкции) и на момент обследования имели неудовлетворительное качество, было максимальным среди лиц с тяжелым 38 (24,7%) и средним 26 (16,9%) пародонтитом (таблица 8).

Т а б л и ц а 8 - Локальные клинические признаки, характеризующие прикус и строение мягких тканей полости рта в группе больных пародонтитом

Степень тяжести пародонтита Изучаемый признак	Легкая (n=27)		Средняя (n=66)		Тяжелая (n=61)		Всего (n=154)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Аномалии развития мягких тканей полости рта	11	7,1	29	18,8	32	20,8	72	46,7
Зубочелюстные аномалии (первичные и вторичные)	6	3,9	25	16,2	36	23,4	67	43,5
Неудовлетворительные реставрации и ортопедические конструкции	4	2,6	26	16,9	38	24,7	68	44,2

У обследованных пациентов отмечались следующие показатели, отражающие интенсивность кариозного процесса. В группе пациентов со средней степенью тяжести пародонтита показатель КПУ был несколько выше за счет составляющей – П (пломбы) ($H=9,073$, $df=2$, $p=0,011$), а в группе с тяжелой степенью пародонтита значение данного показателя повышается за счет составляющей – У (удаленные зубы) ($H=15,785$, $df=2$, $p=0,001$), по сравнению с пациентами из группы с легким пародонтитом (таблица 9).

Т а б л и ц а 9 - Интенсивность кариеса зубов в группе больных пародонтитом ($M \pm s$)

Степень тяжести пародонтита Изучаемый показатель	Легкая степень (1)	Средняя степень (2)	Тяжелая степень (3)
КПУ	9,9±2,48	12,56±2,38*	14,11±3,14*
КПУП	12,1±2,6	15,89±3,78*	16,32±2,26*

* - различия статистически значимы при использовании критерия Крускала-Уоллиса, $p < 0,05$

При проведении микробиологического исследования биотопа рта установлено, что у пациентов имелись качественные и количественные

изменения нормальной микрофлоры полости рта, которые выражались снижением или отсутствием лактобактерий и бифидумбактерий, повышением количества условно – патогенных видов микроорганизмов, наличием бактерий группы кишечной палочки, наличием ассоциаций патогенных видов бактерий с дрожжеподобными грибами (таблица 10).

Т а б л и ц а 10 - Результаты микробиологического исследования биотопа полости рта в группе больных пародонтитом

Степень тяжести пародонтита микроорганизмы в КОЕ/мл	Легкая (n=11) (1)	Средняя (n=17) (2)	Тяжелая (n=16) (3)	В среднем (n=44)
Грамположительные палочки (анаэробы)				
<i>Bifidobacterium</i> spp.	3,0±0,6	2,2±0,5*	1,9±0,6*	2,4±0,6
<i>Lactobacillus</i> spp.	3,1±0,5	2,1±0,7*	2,0±0,5*	2,4±0,6
Грамположительные палочки и кокки (анаэробы)				
<i>Clostridium</i>	4,6±0,7	5,8±0,5*	5,4±0,7*	5,3±0,6
Грамположительные кокки (факультативные анаэробы, аэробы)				
<i>Enterococcus faecium</i>	3,3±1,2	4,2±1,1*	6,3±1,2*	3,9±1,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,8±0,9	4,3±1,1	5,0±1,2*	4,4±0,9
<i>Streptococcus salivarius</i>	4,1±0,7	5,5±0,9*	5,3±0,7*	4,9±0,8
<i>Streptococcus mitis</i>	4,9±0,8	6,2±1,1*	5,9±0,9*	5,7±0,9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3,9±0,4	4,6±0,4	4,5±0,7	4,3±0,6
<i>Streptococcus viridans</i>	5,7±0,6	6,4±0,8	6,3±0,6	6,1±0,7
Аэробные палочки и кокки				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,1±1,1	4,4±1,2	4,2±1,1	4,2±0,9
Грамотрицательные палочки (факультативные анаэробы)				
<i>Escherichia coli</i>	3,4±0,9	4,1±1,1	4,9±1,0*	4,3±0,9
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3,1±0,7	3,5±0,8	3,9±1,0*	3,5±0,8
Дрожжеподобные грибы				
<i>Candida albicans</i> spp.	2,7±0,5	5,3±0,7*	5,2±0,6*	4,2±0,6

* - различия статистически значимы в сравнении с группой (1), проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова для независимых выборок, $p < 0,05$

При оценке степени дисбиоза в полости рта у больных пародонтитом различной степени тяжести у большинства из них определялся дисбиоз I-II и

III степени, у 10 из 44 обследованных (22,7%) выявлено наличие ассоциаций патогенных видов бактерий с дрожжеподобными грибами (дисбиоз IV степени) (таблица 11). Это были пациенты как со средней и тяжелой, так и легкой степенью тяжести заболевания.

Т а б л и ц а 11 - Степень дисбиоза рта у больных пародонтитом

Степень тяжести пародонтита Степень дисбиоза полости рта	Легкая степень (n=11)		Средняя степень (n=17)		Тяжелая степень (n=16)		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Дисбиоз I-II степени	4	36,4	5	29,4	2	12,5	11	25,0
Дисбиоз III степени	5	45,5	8	47,1	10	62,5	23	52,3
Дисбиоз IV степени	2	18,1	4	23,5	4	25	10	22,7
Всего:	11	100	17	100	16	100	44	100

При наборе материала для генетического исследования в 4 образцах венозной крови, полученной от пациентов основной группы, произошел гемолиз эритроцитов, поэтому, дальнейшее исследование и расчет проводились с использованием образцов 150 пациентов.

При оценке индивидуальных генетических характеристик пациентов больных хроническим генерализованным пародонтитом по сравнению с группой условно здоровых доноров, без проявлений воспаления в полости рта, получены следующие результаты. Частота встречаемости нуклеотидной замены аллеля *C* на аллель *T* в промоторной области гена *IL-1β* в положении -511 в группе больных пародонтитом статистически значимо чаще встречался аллель *T* (таблица 12).

При анализе генотипов полиморфного локуса *C -511 T* гена *IL-1β* в группах обследованных лиц получены следующие данные: генотип *C/C* значимо чаще определялся в группе сравнения. Генотипы, содержащие аллель *T* – гетерозиготный *C/T* и гомозиготный *T/T*, значимо чаще был обнаружен у больных хроническим генерализованным пародонтитом (таблица 13).

Т а б л и ц а 12 - Частота встречаемости аллелей полиморфного локуса *C-511 T* гена *IL-1β* в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Аллель	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
<i>C</i>	180	60	230	76,7	9,63 <i>p</i> =0,003
<i>T</i>	120	40*	70	23,3	
Всего	300	100	300	100	

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 13 - Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса *C-511 T* гена *IL-1β* в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Генотип	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
<i>C/C</i>	44	29,3*	86	57,3	16,528 <i>p</i> =0,0001
<i>C/T</i>	92	61,3*	58	38,7	
<i>T/T</i>	14	9,4*	6	4,0	
Всего	150	100	150	100	

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

Среди больных хроническим генерализованным пародонтитом статистически значимо чаще в 5 экзоне гена *IL-1β* в положении *C+3953 T* встречался аллель *T* (таблица 14).

Т а б л и ц а 14 - Частота встречаемости аллелей полиморфного локуса *C+3953T* гена *IL-1β* в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Аллель	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
<i>C</i>	202	67,3	258	86,0	14,61 <i>p</i> =0,0001
<i>T</i>	98	32,7	42	14,0	
Всего	300	100	300	100	

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

При анализе генотипов полиморфного локуса *C +3953 T* гена *ИЛ-1β* в группах обследованных лиц получены следующие данные: генотип *C/C* значимо чаще определялся в группе сравнения. Генотипы, содержащие аллель *T* – гетерозиготный *C/T* и гомозиготный *T/T*, значимо чаще обнаруживали у больных хроническим генерализованным пародонтитом (таблица 15).

Т а б л и ц а 15 - Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса *C+3953 T* гена *ИЛ-1β* в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Генотип	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	n	%	n	%	
<i>C/C</i>	74	49,3*	112	74,7	18,275 <i>p</i> =0,0001
<i>C/T</i>	54	36,0*	34	22,7	
<i>T/T</i>	22	14,7*	4	2,6	
Всего	150	100	150	100	

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

При анализе встречаемости аллелей локуса *IL-1RN (VNTR в интроне 2)* статистически значимых различий не установлено (табл. 16), при анализе генотипов полиморфного локуса рецепторного антагониста *IL-1RN (VNTR в интроне 2)* установлено, что у больных пародонтитом значимо чаще определялся гомозиготный генотип *2R/2R* и гетерозиготный генотип *2R/4R*. Гомозиготный генотип *4R/4R* статистически значимо чаще встречали у доноров из группы сравнения (таблица 17).

При анализе частоты встречаемости аллелей полиморфного локуса *G-308A* гена *TNFα* в группах пациентов, больных пародонтитом различной степени тяжести и группе сравнения, установлено, что статистически значимых различий в частоте встречаемости изучаемых аллелей не определяется. Имеется тенденция к более частому выявлению носителей аллеля *-308A* гена *TNFα* среди лиц основной группы (таблица 18).

Т а б л и ц а 16 - Частота встречаемости аллелей полиморфного локуса гена *IL-1RN* (*VNTR* интрон 2) в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Аллель	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	n	%	n	%	
2R	84	28	58	19,3	1,780 $\sqrt{1}$ <i>p</i> =0,182
4R	216	72	242	80,7	

- отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 17 - Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса гена *IL-1RN* (*VNTR* интрон 2) в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Генотип	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	n	%	n	%	
2R/2R	4	2,7*	0	0	6,703 <i>p</i> =0,035
2R/4R	76	50,7*	58	38,7	
4R/4R	70	46,6	92	61,3*	
Всего	150	100	150	100	

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 18 - Частота встречаемости аллелей полиморфного локуса *G-308 A* гена *TNF α* в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Аллель	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	n	%	n	%	
G	224	74,7	242	80,7	0,459 <i>p</i> =0,498
A	76	25,3	58	19,3	
Всего	300	100	300	100	

- отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2).

При анализе встречаемости генотипов полиморфного локуса *G-308 A* гена *TNF α* установлено, что в основной группе и в группе сравнения встречаемость вариантов генотипов *G/G*, *G/A*, *A/A* статистически значимо не

различались. У больных пародонтитом отмечается тенденция к более частому носительству гетерозиготного генотипа *G/A* и гомозиготного генотипа *A/A* (таблица 19).

Т а б л и ц а 19 - Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса *G-308 A* гена *TNF α* в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Генотип	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
<i>G/G</i>	80	53,3	96	64,0	2,493 <i>p</i> =0,288
<i>G/A</i>	64	42,7	50	33,3	
<i>A/A</i>	6	4,0	4	2,7	
Всего	150	100	150	100	

- отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2).

При анализе частоты встречаемости аллелей полиморфного локуса гена *IL-4 (VNTR интрон 3)* в группах пациентов, больных пародонтитом различной степени тяжести и группе сравнения, установлено, что статистически значимо чаще в группе больных пародонтитом встречается аллель *3R* (таблица 20).

Т а б л и ц а 20 - Частота встречаемости аллелей полиморфного локуса гена *IL-4 (VNTR интрон 3)* в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Аллель	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень <i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
<i>2R</i>	62	20,7	106	35,3*	4,191 <i>p</i> =0,041
<i>3R</i>	238	79,3*	194	64,7	
Всего	300	100	300	100	

* - различия между группами статистически значимы при *p*<0,05 (критерий χ^2).

При анализе встречаемости генотипов полиморфного локуса гена *IL-4 (VNTR интрон 3)* удалось установить, что в основной группе и в группе

сравнения встречаемость вариантов генотипов $2R/2R$, $2R/3R$, $3R/3R$ была неодинаковой и статистически значимо различалась. У больных пародонтитом отмечается более частое носительство гомозиготного генотипа $3R/3R$. Гетерозиготный генотип $2R/3R$ и гомозиготный генотип $2R/2R$ значимо чаще выявлялся у лиц группы сравнения (таблица 21).

Т а б л и ц а 21 - Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса гена $IL-4$ ($VNTR$ интрон 3) в группах больных пародонтитом и условно здоровых доноров

Генотип	Больные пародонтитом		Условно здоровые доноры		χ^2 , уровень p
	n	%	n	%	
$2R/2R$	2	1,3	18	12*	13,626 $p=0,001$
$2R/3R$	58	38,7	70	46,7	
$3R/3R$	90	60,0*	62	41,3	
Всего	150	100	150	100	

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

Таким образом, в группе больных пародонтитом статистически значимо чаще встречались аллели $-511*T$, $+3953*T$ гена $IL-1\beta$, $3R^*$ ($VNTR$ интрон 3) гена $IL-4$ и генотипы C/T и T/T в промоторной области (-511) и в 5 экзоне ($+3953$) гена $IL-1\beta$, генотипы $2R/2R$ и $2R/4R$ ($VNTR$ интрон 2) гена $IL-1RN$ рисунок 1, 2.

Все биохимические реакции организма закреплены генетически, следовательно, полиморфизм генов, кодирующих экспрессию цитокинов, может определять уровень продукции цитокинов. Нами был изучен уровень цитокинов $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-4$, в сыворотке крови больных хроническим генерализованным пародонтитом и в группе условно здоровых доноров (группа сравнения) (таблица 22). Уровень изучаемых цитокинов в сыворотке крови больных генерализованным пародонтитом и здоровых доноров статистически значимо различались. В группе больных пародонтитом отмечались статистически значимо более высокие значения изучаемых показателей.

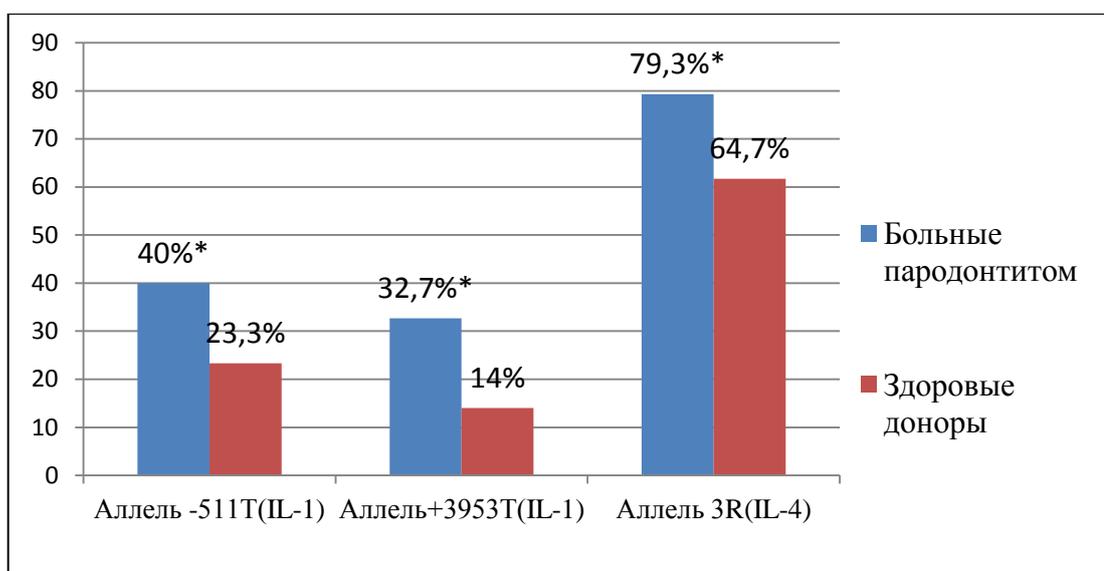


Рисунок 1 - Частота встречаемости аллелей -511 T, +3953 T гена *IL-1β*, аллеля 3R гена *IL-4* у больных пародонтитом и здоровых доноров.

*- различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

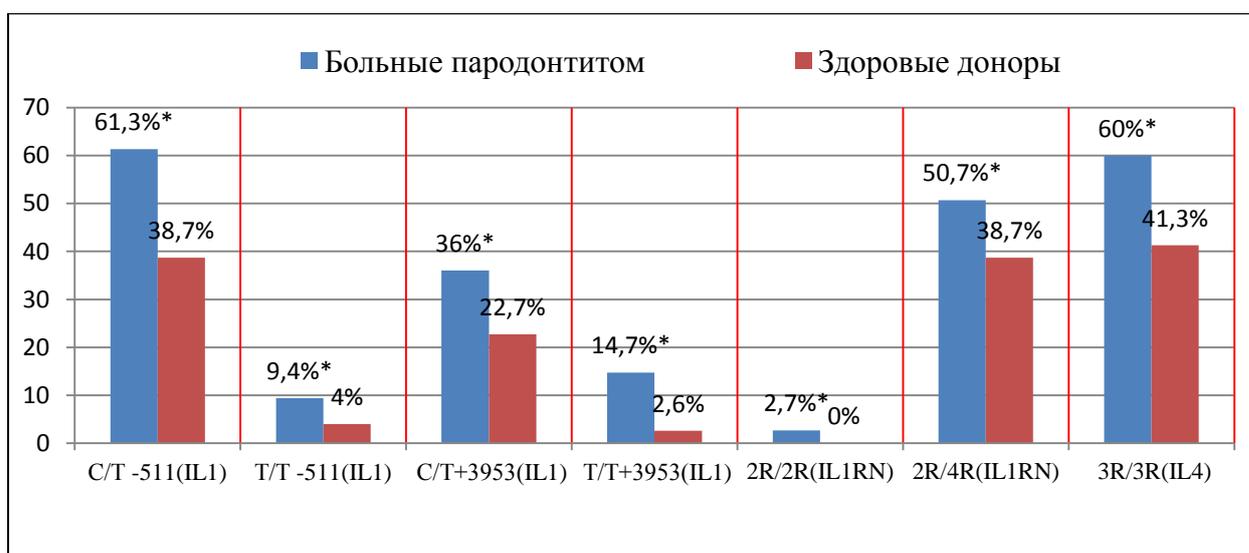


Рисунок 2 - Частота встречаемости генотипов, содержащих аллель -511T, +3953T гена *IL-1β*; аллель 2R гена *IL-1RN*; гомозиготного генотипа 3R/3R гена *IL-4* у больных пародонтитом и здоровых доноров.

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 22 - Уровень цитокинов IL-1 β , TNF α , IL-4 в сыворотке крови больных пародонтитом и условно здоровых доноров (медиана и 95% доверительный интервал медианы)

Уровень цитокина в сыворотке крови (пкг/мл)	Больные пародонтитом	Условно здоровые доноры
IL-1 β	129,59 (27,58-244,35)	46,0 (15,2-75,6)*
TNF α	47,11 (8,99-415,08)	24,89 (2,45-38,73)*
IL-4	20,10 (6,75-49,14)	8,2 (1,4-15,2)*

* - различия статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Хорошо изучены два полиморфизма гена *IL-1 β* : полиморфизм в промоторной области гена в положении *C -511 T* и полиморфизм нуклеотидной замены *C +3953 T* в 5 экзоне. Оба полиморфизма связаны с увеличением продукции интерлейкина 1- β в 2-4 раза. Ген антагонист рецептора *IL-1 β* - *IL-1RN* является естественным ингибитором действия интерлейкина IL-1 β . В гене антагониста рецептора известен минисателлитный полиморфизм (вариабельность по числу 86-членных tandemных повторов) во 2-м интроне, который предполагает существование пяти аллелей, каждому из которых соответствует определенное число повторов. Наиболее часто встречается аллель, содержащий 4 повтора (*4R*), и аллель, содержащий 2 повтора (*2R*). Оставшиеся аллели (*3R*, *5R*, *6R*) встречаются менее чем в 5% случаев. Считается, что увеличение числа повторов (*4R*, *5R*, *6R*) ведет к понижению количества антагониста рецептора IL-1 β , а носительство короткого аллеля *2R* связано с повышенным уровнем циркулирующего антагониста рецептора IL-1 β в ходе воспаления. В нашем исследовании уровень IL-1 β в сыворотке крови больных пародонтитом в 3,2 раза превышал уровень IL-1 β в сыворотке крови лиц из группы сравнения.

Цитокин $TNF\alpha$ участвует в иммунном ответе клеток на микроорганизмы, регулирует локальные тканевые реакции организма. Игрет важную роль в синтезе белков острой фазы воспаления, обладает цитотоксическим действием. Изучены и описаны 4 полиморфизма гена $TNF\alpha$, которые связаны с однонуклеотидными заменами. Наиболее интересным представляется полиморфизм в промоторной зоне гена $TNF\alpha - G -308 A$, в связи с имеющимися литературными данными о повышении продукции данного белка в 2 раза при замене Гуанина на Аденин в положении -308 . По нашим данным зафиксировано превышение уровня $TNF\alpha$ в сыворотке крови больных пародонтитом по сравнению с уровнем данного цитокина у лиц из группы сравнения в 3,3 раза.

$IL-4$ определяет активацию и дифференцировку В -клеток, наиболее сильный эффект $IL-4$ оказывает на регуляцию образования других цитокинов при иммунном ответе. Известный полиморфизм в гене $IL-4$ - число tandemных повторов (70 пар оснований) в области третьего интрона считают маркером наличия другого полиморфного аллеля ($-590T$), влияющего на повышенную транскрипционную активность гена $IL-4$, наиболее часто встречается аллель с тремя повторами (3R), реже аллель с двумя повторами (2R), также есть третий, очень редкий, аллель (4R). Считают, что 2R аллель может быть защитным фактором при ревматоидном артрите для разрушения тканей суставов. В нашем исследовании было обнаружено статистически значимое превышение уровня $IL-4$ в сыворотке крови больных, по сравнению с лицами из группы сравнения более, чем в 2 раза.

ГЛАВА 3

КЛИНИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА, ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ИХ СИСТЕМНАЯ ПРОДУКЦИЯ У БОЛЬНЫХ; ИЗМЕНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА У БОЛЬНЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ БАЗОВОГО КУРСА ТЕРАПИИ

3.1 Результаты клинического обследования группы больных пародонтитом, особенности клинических проявлений пародонтита в группах обследованных больных в зависимости от генетических характеристик пациентов

Характерными для пациентов с заболеваниями пародонта являются жалобы, связанные с клинической выраженностью воспалительной реакции (таблица 23).

Учитывая, что у всех обследованных пациентов в момент обращения имелись активные проявления болезни, в высоком проценте случаев преобладали такие жалобы, как кровоточивость десен при чистке зубов, приеме грубой пищи, боль в деснах, припухлость, отек десен, быстрое образование зубного налета, зубной камень. Немногие пациенты 8 (12,4%) со средней степенью пародонтита предъявляли жалобы на гноетечение из десен, часто это связано с тем, что объем экссудата может быть незначительным, и не фиксируется пациентами. При инструментальном обследовании, в период обострения, гнойный экссудат в пародонтальных карманах обнаруживается значительно чаще. Количество пациентов, предъявляющих жалобы на подвижность зубов, смещение и изменение их положения, увеличивалось по мере прогрессирования болезни и было связано с разрушением опорных костных структур.

Т а б л и ц а 23 - Жалобы больных, связываемые с пародонтитом

Степень тяжести пародонтита Изучаемый признак	Легкая (n=27)		Средняя (n=66)		Тяжелая (n=61)		В среднем (n=154)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Кровоточивость десен при чистке зубов, приеме грубой пищи	22	82,4	49	74,2	53	87,6	124	80,5
Припухлость, отек десен	18	67,2	48	73,4	37	61,2	103	67,5
Боль, зуд, дискомфорт в деснах	3	10,2	13	19,1*	16	26,7*	32	20,8
Гноетечение из пародонтальных карманов	0	0	8	12,4*	23	38,5*	31	20,1
Образование зубного налета, зубной камень	16	58,3	60	87,8*	53	86,4*	129	83,8
Подвижность зубов	1	4,1	18	27,3*	26	42,5*	45	29,2
Запах изо рта	10	36,1*	36	54,4	28	46,3	74	48,1
Смещение, изменение положения отдельных зубов	0	0	25	38,4*	42	68,8*	77	50,0
$\chi^2=28,537; \sqrt{v}=14; p=0,002$								

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Важной частью индивидуального клинического обследования пациентов является качественная и количественная характеристика причин и симптомов заболевания. Для этой цели использовали ряд общепринятых индексов: индекс гигиены полости рта - простой, комплексный показатель санитарного состояния полости рта; пародонтальный индекс Рассела, характеризует распространенность гингивита и пародонтита, позволяет получить биологическую градацию пародонтальных поражений и оценить перспективы лечения; индекс кровоточивости считается тонким индикатором степени тяжести гингивита, позволяет оценить течение воспалительного процесса; ПМА индекс – помогает оценить количество пораженных гингивитом зубов с учетом того, что количество коррелирует с тяжестью гингивита; костный показатель Fuchs для оценки степени резорбции альвеолярного отростка и некоторые другие показатели. С использованием выше описанных индексов был оценен уровень гигиены и состояние тканей пародонта у больных пародонтитом на этапе первичного осмотра (таблица 24).

Т а б л и ц а 24 - Индексная оценка уровня гигиены и состояния тканей пародонта больных при первичном обследовании группы пациентов ($M \pm s$)

Степень тяжести пародонтита Изучаемый показатель	Легкая (1)	Средняя (2)	Тяжелая (3)
ИЗН (баллы) Индекс зубного налета	1,64±0,78	1,79 ± 0,80	1,79 ± 0,90
ИЗК (баллы) Индекс зубного камня	1,16±0,78	1,65 ± 0,89	1,69 ± 0,85*
ИГ (баллы) Индекс гигиены	2,80±0,84	3,44 ± 1,37	3,48 ± 1,44*
Индекс кровоточивости РВИ (баллы)	2,91±0,77	2,93 ± 0,62	2,79 ± 0,71
Пародонтальный индекс Рассела (баллы)	3,79±1,28	5,21±0,67*	5,95±0,8**^

Продолжение таблицы 24

Степень тяжести пародонтита Изучаемый показатель	Легкая (1)	Средняя (2)	Тяжелая (3)
КП (баллы) Костный показатель Fuchs	77,64±5,46	65,69±5,29**	45,00±6,49** [^] ^
ПМА %	56,53±7,23	67,17 ±5,61	64,23±7,14
Глубина пародонтальных карманов, мм	3,86±1,48	4,77 ± 0,87**	6,11 ± 1,14** ^{^^}
Патологическая подвижность зубов (баллы)	0,25±0,2	1,26 ± 0,3**	2,4 ± 0,52** ^{^^}

* - различия статистически значимы в сравнении с группой (1) при $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**). ^ - различия статистически значимы в сравнении с группой (2) при $p < 0,05$ (^), $p < 0,01$ (^^). При сравнении между группами проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова для независимых выборок.

Из представленного материала следует, что пациенты с легкой степенью пародонтита имели неудовлетворительный уровень, а пациенты со средней и тяжелой степенью болезни имели плохой уровень гигиенического состояния рта. Значение пародонтального индекса в группах соответствовало степени поражения тканей пародонта, костный показатель существенно снижался в соответствии со степенью тяжести процесса, и достигал средних значений 45% для больных тяжелым пародонтитом. По мере прогрессирования процесса, происходило уменьшение объема костной ткани альвеолярных отростков челюстей пациентов, примерно, на 25%. При первичном обследовании пациентов у всех были отмечены высокие средние значения индекса ПМА, независимо от степени тяжести пародонтита, что свидетельствовало о выраженной интенсивности и распространенности

воспаления в изучаемых тканях. Соответственно степени тяжести пародонтита, определялись средние значения таких показателей, как глубина пародонтальных карманов и патологическая подвижность зубов. Большой тяжести процесса соответствовали большие значения данных показателей.

Несмотря на похожие проявления пародонтита у пациентов отмечается неодинаковая выраженность основных симптомов заболевания. Анализ анамнестических данных и жалоб пациентов, характер деструкции опорной кости и относительная скорость резорбции кости, позволил выделить лиц с различной выраженностью данных признаков среди пациентов, имеющих одинаковую степень тяжести пародонтита на момент обследования (таблица 25).

Т а б л и ц а 25 - Выраженность признаков болезни у лиц с различной степенью тяжести пародонтита

Изучаемый признак	Признак выражен	Легкая степень (n=27)		Средняя степень (n=66)		Тяжелая степень (n=61)		Всего (n=154)		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Относительная скорость резорбции кости										
От 6% и более в год (быстрая)	сильно	-	-	27	40,9	25	41,0	52	33,7	
От 3% до 6% в год (умеренная)	умеренно	16	59,3	21	31,8	23	37,7	50	32,6	
До 3% в год (медленная)	слабо	11	40,7	18	27,3	13	21,3	52	33,7	

Продолжение таблицы 25

Изучаемый признак	Признак выражен	Легкая степень (n=27)		Средняя степень (n=66)		Тяжелая степень (n=61)		Всего (n=154)	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Характер деструкции опорной кости									
Носит неравномерный характер, сочетание угловых и горизонтальных дефектов, дефекты фуркаций, есть зоны с нарушением замыкательных пластинок	сильно	-	-	21	31,8	26	42,6	47	30,5
Носит неравномерный характер, сочетание угловых и горизонтальных дефектов в отдельных зонах челюстей, дефекты отдельных фуркаций, замыкательные пластинки сохранны	умеренно	11	40,7	21	31,8	25	41,0	57	37,0
Носит равномерный характер, преимущественно горизонтальные дефекты, замыкательные пластинки сохранны	слабо	16	59,3	24	36,4	10	16,4	50	32,5

На основании оценки относительной скорости утраты и характера деструкции опорной кости в совокупности с выраженностью признаков воспаления мы оценили характер течения хронического пародонтита у больных, имеющих разную степень тяжести болезни на момент обследования, как три варианта течения и условно обозначили: «агрессивное», «умеренно прогрессирующее» и «медленно прогрессирующее» течение болезни (таблица 26)

Т а б л и ц а 26 - Варианты течения пародонтита (по скорости и характеру деструкции опорной кости в совокупности с выраженностью признаков воспаления) и комбинации полиморфных аллелей генов *IL-1 β* , *IL-1RN* (*VNTR* интрон 2), *TNF α* с генотипами гена *IL-4* (*VNTR* интрон 3) у больных с выделенными типами течения

Варианты течения пародонтита (группы)	Комбинации полиморфных аллелей генов <i>IL-1β</i> , <i>IL-1RN</i> (<i>VNTR</i> интрон 2), <i>TNFα</i> с генотипами гена <i>IL-4</i> (<i>VNTR</i> интрон 3) у больных данной группы	n
«Агрессивное» течение Быстрая (6% и более за год), неравномерная резорбция опорной кости, наличие зон кости с нарушением замыкательных пластинок; с 3 и более обострениями в году, которые сопровождаются изменением общего состояния организма в сочетании с выраженными преимущественно умеренно клиническими проявлениями (средний возраст пациентов составил 46,4±3,8 лет)	<i>IL-1β</i> -511T/ <i>IL-1β</i> +3953C/ <i>IL-1RN</i> 2R4R/ <i>TNFα</i> -308 A с <i>IL-4</i> 3R3R	11
	<i>IL-1β</i> -511T/ <i>IL-1β</i> +3953C/ <i>IL-1RN</i> 2R4R/ <i>TNFα</i> -308 A с <i>IL-4</i> 3R2R	10
	<i>IL-1β</i> -511T/ <i>IL-1β</i> +3953C/ <i>IL-1RN</i> 2R2R/ <i>TNFα</i> -308 A с <i>IL-4</i> 3R2R	2
	<i>IL-1β</i> -511T/ <i>IL-1β</i> +3953T/ <i>IL-1RN</i> 2R4R/ <i>TNFα</i> -308A с <i>IL-4</i> 3R3R	5
	<i>IL-1β</i> -511T/ <i>IL-1β</i> +3953T/ <i>IL-1RN</i> 4R4R/ <i>TNFα</i> -308A с <i>IL-4</i> 3R3R	3
	<i>IL-1β</i> -511T/ <i>IL-1β</i> +3953T/ <i>IL-1RN</i> 2R4R/ <i>TNFα</i> -308 G с <i>IL-4</i> 3R3R	7
	<i>IL-1β</i> -511C/ <i>IL-1β</i> +3953T/ <i>IL-1RN</i> 2R4R/ <i>TNFα</i> -308A с <i>IL-4</i> 3R3R	7
<i>IL-1β</i> -511T/ <i>IL-1β</i> +3953C/ <i>IL-1RN</i> 2R4R/ <i>TNFα</i> -308 G с <i>IL-4</i> 3R3R	5	

Продолжение таблицы 26

«Умеренно прогрессирующее» течение	<i>IL-1β -511T/ IL-1β +3953T/ IL-1RN 4R4R / TNFα - 308 A c IL-4 3R2R</i>	15
Умеренная (от 3% до 6% за год), неравномерная резорбция опорной кости, в среднем - 2 обострения в году, которые могут сопровождаться изменением общего состояния организма, в сочетании с выраженными клиническими проявлениями (средний возраст пациентов составил 55,1 \pm 3,9 лет)	<i>IL-1β -511T/ IL-1β +3953T/ IL-1RN 2R4R/ TNFα - 308 c /IL-4 3R2R</i>	9
	<i>IL-1β -511T/ IL-1β +3953T/ IL-1RN 2R4R / TNFα - 308 G c IL-4 3R3R</i>	7
	<i>IL-1β -511T/ IL-1β +3953T/ IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 3R3R</i>	9
	<i>IL-1β -511T/ IL-1β +3953C/ IL-1RN 2R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 3R3R</i>	5
	<i>IL-1β -511C/ IL-1β+3953T/ IL-1RN 2R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 3R3R</i>	3
	<i>IL-1β-511T/ IL-1β +3953C / IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 A c IL-4 3R3R</i>	2
«Медленно прогрессирующее» течение	<i>IL-1β -511T/ IL-1β +3953C/ IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 3R3R</i>	10
Медленная (до 3% за год) равномерная резорбция опорной кости, с 1 и менее обострением в году, протекающим без изменения общего состояния организма в сочетании преимущественно слабыми клиническими проявлениями (средний возраст пациентов составил 48,4 \pm 4,6 лет)	<i>IL-1β -511C/ IL-1β +3953T/ IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 3R3R</i>	7
	<i>IL-1β -511C/ IL-1β +3953C/ IL-1RN 2R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 3R2R</i>	7
	<i>IL-1β -511C/ IL-1β +3953C/ IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 A c IL-4 3R2R</i>	7
	<i>IL-1β -511T/ IL-1β +3953C/ IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 3R2R</i>	6
	<i>IL-1β -511C/ IL-1β +3953C/ IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 A c IL-4 3R2R</i>	4
	<i>IL-1β -511C/ IL-1β +3953T/ IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 A c IL-4 3R2R</i>	4
	<i>IL-1β -511C/ IL-1β +3953C/ IL-1RN 4R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 3R2R</i>	3
	<i>IL-1β -511C/ IL-1β +3953C/ IL-1RN 2R4R/ TNFα - 308 G c IL-4 2R2R</i>	2
Всего		150

Исходя из предположения, что наличие полиморфных аллелей генов, ответственных за тяжесть поражения и/или прогрессирование резорбции кости, выраженность клинических проявлений болезни у пациентов, мы проанализировали распределение аллелей полиморфных локусов изучаемых генов цитокинов *IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4* у больных пародонтитом, в зависимости от клинической степени тяжести пародонтита, а затем в зависимости от выделенных типов течения болезни.

Из 150 обследованных больных хроническим генерализованным пародонтитом, образцы венозной крови которых были использованы для генетического исследования, 26 человек (17,3%) имели легкую степень тяжести заболевания, 64 человека (42,7%) – среднюю степень тяжести и 60 человек (40%) – тяжелую степень пародонтита. Нами была проанализирована частота встречаемости аллелей полиморфных локусов изучаемых генов цитокинов у больных пародонтитом, в зависимости от клинической степени тяжести пародонтита (таблица 27). Из представленных данных видно, что с увеличением тяжести пародонтита статистически значимо повышается доля аллеля -511T гена *IL-1 β* .

Т а б л и ц а 27 - Распределение аллелей полиморфного локуса *C-511 T* гена *IL-1 β* у больных пародонтитом, в зависимости от степени тяжести процесса

Степень тяжести пародонтита	Аллель полиморфного локуса <i>C-511 T</i> гена <i>IL-1β</i>				Всего	
	<i>-511 C</i>		<i>-511 T</i>			
	n	%	n	%	n	%
Легкая	39	75	13	25*	52	100
Средняя	78	62,2	50	37,8*	128	100
Тяжелая	63	52,5	57	47,5*	120	100
40,0	180	60,0	120	40,0	300	100
$\chi^2=11,411; p=0,003$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Для распределения аллелей полиморфного локуса *C+3953 T* гена *IL-1β* у больных хроническим генерализованным пародонтитом, в зависимости от степени тяжести пародонтита отмечена тенденция к повышению частоты встречаемости в группах больных с большей степенью пародонтита, но данные не достигают уровня статистической значимости (таблица 28).

Т а б л и ц а 28 - Распределение аллелей полиморфного локуса *C+3953 T* гена *IL-1β* у больных пародонтитом, в зависимости от степени тяжести процесса

Степень тяжести пародонтита	Аллель полиморфного локуса <i>C+3953 T</i> гена <i>IL-1β</i>				Всего	
	<i>+3953 C</i>		<i>+3953 T</i>			
	n	%	n	%	n	%
Легкая	37	71,2	15	28,8	52	100
Средняя	87	67,8	41	32,2	128	100
Тяжелая	78	65	42	35	120	100
Всего	202	67,3	98	32,7	300	100

$\chi^2=0,593; p=0,964$

Отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2).

При изучении распределения аллелей полиморфного локуса гена *IL-1RN* (*VNTR интрон 2*), в зависимости от степени тяжести пародонтита, определяется статистически значимое увеличение доли изучаемого аллеля по мере повышения степени тяжести пародонтита (таблица 29).

При изучении распределения аллелей полиморфного локуса *G -308 A* гена *TNFα*, в зависимости от клинической степени тяжести пародонтита, отмечено статистически значимо более частое носительство аллеля *-308 A** у больных со средней и тяжелой степенью тяжести заболевания (таблица 30).

Т а б л и ц а 29 - Распределение аллелей полиморфного локуса гена *IL-1RN* (*VNTR* в *интроне 2*) у больных пародонтитом, в зависимости от степени тяжести процесса

Степень тяжести пародонтита	Аллель полиморфного локуса <i>IL-1RN</i> (<i>VNTR</i> <i>интрон 2</i>)				Всего	
	<i>4R</i>		<i>2R</i>			
	n	%	n	%	n	%
Легкая	44	84,5	8	15,5*	52	100
Средняя	98	76,7	30	23,3*	128	100
Тяжелая	74	61,6	46	38,4*	120	100
Всего	216	72,0	84	28,0	300	100

$\chi^2=14,654; p=0,001$

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 30 - Распределение аллелей полиморфного локуса *G -308 A* гена *TNF α* у больных пародонтитом, в зависимости от степени тяжести процесса

Степень тяжести пародонтита	Аллель полиморфного локуса <i>G -308 A</i> гена <i>TNFα</i>				Всего	
	<i>-308 G</i>		<i>-308 A</i>			
	n	%	n	%	n	%
Легкая	45	86,5	7	13,5*	52	100
Средняя	93	72,6	35	27,4	128	100
Тяжелая	86	71,7	34	28,3	120	100
Всего	224	74,7	76	25,3	300	100

$\chi^2=8,025; p=0,018$

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

При изучении распределения аллелей *2R* и *3R* полиморфного локуса гена *IL-4 (VNTR интрон 3)*, в зависимости от клинической степени тяжести пародонтита, получены следующие данные: доля аллеля *3R* достигает 88,3% у больных тяжелой степенью пародонтита, что статистически значимо выше по сравнению с другими группами пациентов. Аллель *2R* полиморфного локуса гена *IL-4 (VNTR интрон 3)* значимо чаще определялся в группе пациентов с легкой степенью тяжести пародонтита (таблица 31).

Т а б л и ц а 31 - Распределение аллелей *2R* и *3R* полиморфного локуса гена *IL-4 (VNTR интрон 3)* у больных пародонтитом, в зависимости от тяжести процесса

Степень тяжести пародонтита	Аллель полиморфного локуса гена <i>IL-4 (VNTR интрон 3)</i>				Всего	
	<i>2R</i>		<i>3R</i>			
	п	%	п	%	п	%
Легкая	15	28,9	37	71,1	52	100
Средняя	33	25,8	95	74,2	128	100
Тяжелая	14	11,7*	106	88,3	120	100
Всего	62	20,7	238	79,3	300	100
$\chi^2=9,492; p=0,009$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Таким образом, у больных со средней и тяжелой степенью тяжести пародонтита чаще определялись аллели *-511 T** гена *IL-1 β* , *2R* гена *IL-1RN (VNTR интрон 2)*, *-308 A** гена *TNF α* и аллель *3R* гена *IL-4 (VNTR интрон 3)* (рисунок 3).

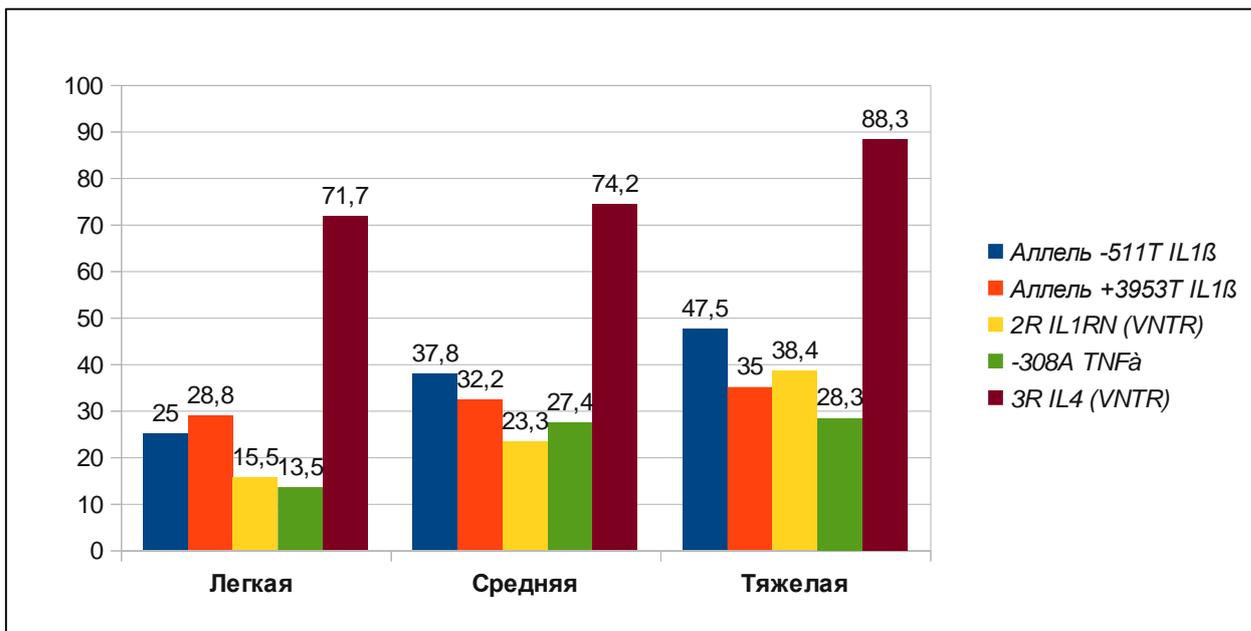


Рисунок 3 - Распределение аллелей полиморфных локусов генов цитокинов *IL-1β*, *IL-1RN*, *TNFα* и *IL-4* (в %) у больных с различной степенью тяжести пародонтита.

Далее нами изучено распределение полиморфных аллелей генов воспалительных цитокинов в группах пациентов с разным характером течения пародонтита (таблица 32).

Т а б л и ц а 32 - Распределение аллелей полиморфного локуса *C-511 T* гена *IL-1β* у больных, в зависимости от характера течения пародонтита

Течение пародонтита	Аллель полиморфного локуса <i>C-511 T</i> гена <i>IL-1β</i>				Всего	
	<i>-511 C</i>		<i>-511 T</i>			
	n	%	n	%	n	%
«Агрессивное»	47	15,6	53	44,2	100	30,3
«Умеренно прогрессирующее»	53	17,7	47	39,1	100	30,3
«Медленно прогрессирующее»	80	26,7	20	16,7*	100	30,3
Всего	180	60,0	120	40,0	300	100
$\chi^2=14,479$; $p=0,0001$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Статистически значимо чаще аллель *C-511 T** встречался у лиц с «умеренно прогрессирующим» и «агрессивным» течением пародонтита, по сравнению с больными, имеющими «медленно прогрессирующее» течение.

Для распределения аллелей полиморфного локуса *C+3953 T* гена *IL-1β* у больных хроническим генерализованным пародонтитом, в зависимости от характера течения пародонтита отмечена следующая закономерность: в группе больных с «умеренно прогрессирующим» течением максимальное, а у лиц с «медленно прогрессирующим» течением минимальное количество изучаемого аллеля (таблица 33).

Т а б л и ц а 33 - Распределение аллелей полиморфного локуса *C+3953 T* гена *IL-1β* у больных, в зависимости от характера течения пародонтита

Течение пародонтита	Аллель полиморфного локуса <i>C+3953 T</i> гена <i>IL-1β</i>				Всего	
	<i>+3953 C</i>		<i>+3953 T</i>			
	n	%	n	%	n	%
«Агрессивное»	65	21,6	35	11,7	100	30,3
«Умеренно прогрессирующее»	48	16,0	52	17,3	100	30,3
«Медленно прогрессирующее»	89	29,7	11	3,7	100	30,3
Всего	202	67,3	98	32,7	300	100
$\chi^2=12,189; p=0,002$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

У пациентов с «агрессивным» течением пародонтита чаще других встречался аллель 2R гена *IL-1RN* (*VNTR* в интроне 2) (таблица 34).

Т а б л и ц а 34 - Распределение аллелей полиморфного локуса гена *IL-1RN* (*VNTR* интрон 2) у больных, в зависимости от характера течения пародонтита

Течение пародонтита	Аллель полиморфного локуса <i>IL-1RN</i> (<i>VNTR</i> в интроне 2)				Всего	
	4R		2R			
	n	%	n	%	n	%
«Агрессивное»	53	17,7	47	15,7*	100	30,3
«Умеренно прогрессирующее»	72	24,0	28	9,3	100	30,3
«Медленно прогрессирующее»	91	30,3	9	3,0	100	30,3
Всего	216	72,0	84	28,0	300	100
$\chi^2=11,988; p=0,0001$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

При изучении распределения аллелей полиморфного локуса *G-308 A* гена *TNF α* , в зависимости от характера течения пародонтита, отмечено статистически значимо более частое носительство аллеля -308* A у больных с «агрессивным» течением пародонтита (таблица 35).

При изучении распределения аллелей 2R и 3R полиморфного локуса гена *IL-4* (*VNTR* в интроне 3), в зависимости от характера течения пародонтита, получены следующие данные: аллель 3R чаще встречался у больных с «агрессивным» и «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (таблица 36).

Т а б л и ц а 35 - Распределение аллелей полиморфного локуса *G -308 A* гена *TNF α* у больных, в зависимости от характера течения пародонтита

Течение пародонтита	Аллель полиморфного локуса <i>G -308 A</i> гена <i>TNFα</i>				Всего	
	<i>-308 G</i>		<i>-308 A</i>			
	n	%	n	%	n	%
«Агрессивное»	62	20,7	38	12,6*	100	30,3
«Умеренно прогрессирующее»	80	26,7	20	6,7	100	30,3
«Медленно прогрессирующее»	82	27,3	18	6,0	100	30,3
Всего	224	74,7	76	25,3	300	100
$\chi^2=12,069$; $p=0,002$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 36 - Распределение аллелей *2R* и *3R* полиморфного локуса гена *IL-4 (VNTR в интроне 3)* у больных хроническим генерализованным пародонтитом, в зависимости от характера течения пародонтита

Течение пародонтита	Аллель полиморфного локуса гена <i>IL-4 (VNTR в интроне 3)</i>				Всего	
	<i>2R</i>		<i>3R</i>			
	n	%	n	%	n	%
«Агрессивное»	12	4,0	88	29,3	100	30,3
«Умеренно прогрессирующее»	15	5,0	85	28,3	100	30,3
«Медленно прогрессирующее»	35	11,7*	65	21,7	100	30,3
Всего	62	20,7	238	79,3	300	100
$\chi^2=6,434$; $p=0,04$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

У пациентов с «агрессивным» течением болезни статистически значимо чаще, по сравнению с остальными пациентами, встречались полиморфные аллели 2R гена *IL1RN* (*VNTR* интрон 2) и -308A гена *TNF α* . В группе лиц с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита чаще, чем у остальных пациентов определялся аллель +3953 T гена *IL-1 β* и чаще отмечалось совместное носительство аллелей +3953 T с -511T гена *IL-1 β* . Полиморфный аллель 2R гена *IL1RN* (*VNTR* интрон 2) встречался в данной группе значимо реже, чем у больных с «агрессивным» течением, при этом значимо чаще, чем у пациентов с «медленно прогрессирующим» течением болезни. У пациентов с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита статистически значимо реже определялись 4 (-511T и +3953T гена *IL-1 β* ; 2R гена *IL1RN* (*VNTR* интрон 2) и 3R гена *IL-4* (*VNTR* интрон 3)) из 5 изучаемых полиморфных аллелей генов воспалительных цитокинов (рисунок 4).

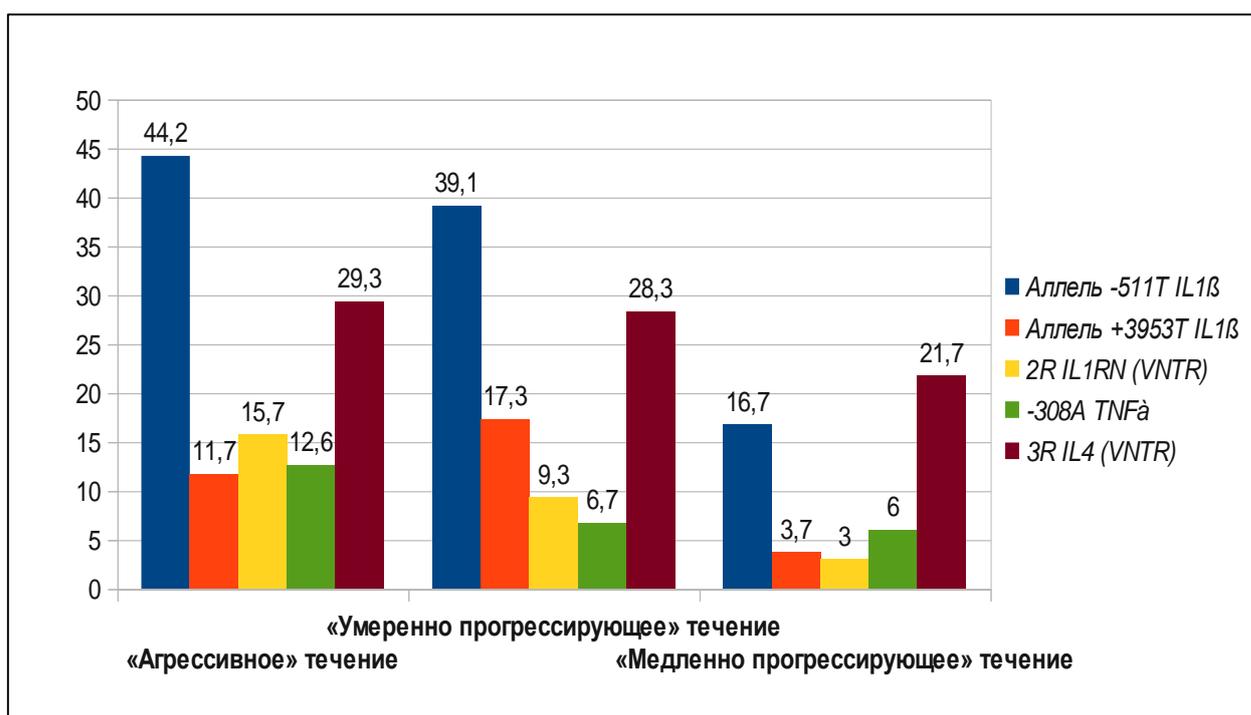


Рисунок 4 - Распределение полиморфных аллелей (в %) генов *IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4* у пациентов с различным характером течения пародонтита.

Для показателей, характеризующих деструкцию альвеолярной кости, тяжести поражение мягких тканей пародонта имеются корреляционные связи с носительством полиморфных аллелей генов *IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* . Между наличием дефектов в области фуркаций и наличием аллеля -308A гена *TNF α* отмечена прямая средняя корреляционная связь ($r=0,54$, $t(N-2)=4,46$, $p=0,001$); между наличием аллеля -308A гена *TNF α* и частотой обострений в году - прямая средняя корреляционная связь ($r=0,50$, $t(N-2)=4,16$, $p=0,0001$); между наличием аллеля -308A гена *TNF α* и глубиной пародонтального кармана в области моляров - прямая средняя корреляционная связь ($r=0,55$, $t(N-2)=5,70$, $p=0,001$); наличием аллеля -308A гена *TNF α* и глубиной пародонтального кармана в области премоляров - прямая средняя корреляционная связь ($r=0,53$, $t(N-2)=5,14$, $p=0,0001$); между наличием аллеля -511T гена *IL-1 β* и глубиной пародонтального кармана в области моляров - прямая умеренная корреляционная связь ($r=0,47$, $t(N-2)=4,59$, $p=0,001$); между наличием аллеля 511T гена *IL-1 β* и степенью резорбции альвеолярной кости в области моляров - прямая умеренная корреляционная связь ($r=0,49$, $t(N-2)=5,01$, $p=0,001$); между наличием аллеля 2R гена *IL-1RN* и степенью резорбции альвеолярной кости - прямая средняя корреляционная связь ($r=0,55$, $t(N-2)=5,70$, $p=0,001$).

При сравнении системного уровня цитокинов IL-1 β , TNF α и IL-4 в сыворотке крови у больных с выделенными типами клинического течения болезни статистически значимых различий не установлено (таблица 37).

Т а б л и ц а 37 - Уровень цитокинов IL-1 β , TNF α , IL-4 в сыворотке крови больных с различным характером течения пародонтита (медиана и интерквартильный размах)

Показатель	Течение пародонтита		
	«Агрессивное»	«Умеренно прогрессирующее»	«Медленно прогрессирующее»
IL-1 β , пкг/мл	116,11 (47,29-209,33)	155,47 (39,47-255,17)	109,45 (32,91-202,24)
TNF α , пкг/мл	54,23 (35,54-453,06)	52,74 (32,73-215,35)	48,54 (27,14-116,31)
IL-4, пкг/мл	20,4 (8,64-32,41)	18,75 (8,12-31,96)	17,1 (5,30-29,65)

Отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий Манна-Уитни).

3.2 Индексная оценка состояния тканей пародонта у больных с различной степенью тяжести пародонтита на фоне базового курса терапии

Назначая больному проведение комплекса лечебных мероприятий, врач планирует достижение клинических и биологических целей терапии. Применительно к заболеваниям пародонта, ассоциированным с инфекцией, клиническими целями терапии являются: полное купирование симптомов заболевания; нормализация нарушенных функций; профилактика осложнений и рецидивов заболевания. Биологическими целями терапии являются: устранение этиологического фактора - эрадикация инфекта, восстановление структурных изменений слизистой оболочки десны. Полость рта является открытой системой с постоянным загрязнением и высокой бактериальной нагрузкой, поэтому, достичь полного устранения инфекта не представляется возможным. В данном случае биологической целью лечения является максимальное снижение микробной нагрузки.

Ряд местных факторов полости рта, способствующих развитию пародонтита, являются модифицируемыми факторами. Так, мелкое преддверие полости рта, патологически прикрепленные уздечки губ и щечные тяжи корректируются различными хирургическими способами. Зубочелюстные аномалии (первичные и вторичные), дисфункции височно-нижнечелюстных суставов частично или полностью устраняются при помощи ортодонтического, ортопедического и, в некоторых случаях, хирургического лечения; кариозные полости, некачественные реставрации и ортопедические конструкции лечатся и заменяются стоматологом-терапевтом и ортопедом. Состав и свойства ротовой жидкости могут корректироваться применением различных лечебно-профилактических или гигиенических средств и изменяются после санации полости рта.

К немодифицируемым (неизменяемым) факторам следует отнести индивидуальные генетические характеристики, пол, возраст пациентов, длительность заболевания. Совокупная оценка всех перечисленных признаков

важна для индивидуального прогноза течения болезни, исхода лечения пациентов.

Для всех форм пародонтита принципы начального лечения одинаковы, в зависимости от индивидуальных особенностей (совокупности изменяемых и неизменяемых факторов) больного, лечебные этапы базового курса могут иметь несколько разную продолжительность. Базовое лечение – это этиологическое, антимикробное, нехирургическое лечение, которое включает профессиональные и домашние гигиенические мероприятия, механическое удаление зубной бляшки, элементы закрытого кюретажа, медикаментозную обработку пародонтальных карманов, устранение ретенционных пунктов для фиксации зубной бляшки. Как результат - достижение чистой гладкой поверхности корней и максимальное снижение бактериальной нагрузки в полости рта в целом.

Всем обследованным пациентам было показано и проведено базовое лечение, на этапах которого проводилась оценка гигиены полости рта и состояния тканей пародонта.

Первым этапом в базовом лечении пациентов был подбор средств гигиены полости рта, обучение гигиене полости рта, далее приступали к механическому удалению наддесневых зубных отложений с последующей антисептической обработкой, одновременно, контролировали полученные гигиенические навыки. По истечении первых двух недель лечения, все пациенты отмечали улучшение состояния, чаще всего, уменьшался отек десневого края, боль и другие неприятные ощущения в десне, кровоточивость при чистке зубов и приеме жесткой пищи, внешний вид десны и зубов. Данные факты подтверждаются значениями изучаемых показателей. У всех пациентов, не зависимо от степени тяжести пародонтита, статистически значимо уменьшились индексы зубного налета, камня и, в целом, индекс гигиены, более чем на 1 балл (1,15; 1,25; 1,42 – соответственно степени тяжести), но при этом достигнутые значения продолжали соответствовать неудовлетворительному уровню санитарного состояния полости рта.

Значение индекса ПМА значительно снизилось у всех пациентов более чем на 20%, что свидетельствовало о снижении интенсивности и распространенности гингивита, но полученные значения данного индекса оставались в диапазоне выраженного патологического процесса (таблицы 38, 39, 40).

Т а б л и ц а 38 - Индексная оценка гигиены рта и состояния тканей пародонта больных пародонтитом легкой степени тяжести на фоне лечения ($M \pm \sigma$)

Изучаемый показатель	До лечения	Через 14 дней от начала лечения	Через 1 месяц от начала лечения	Через 3 месяца от начала лечения
ИЗН	1,64±0,78	0,98±0,52**	0,51 ± 0,2**^^	0,47 ± 0,2**^^
ИЗК	1,16±0,78	0,67±0,05**	0,19 ± 0,1**^^	0,21 ± 0,1**^^
ИГ	2,80±0,84	1,65±0,28**	0,7 ± 0,2**^^	0,68 ± 0,2**^^
Индекс кровоточивости	2,91±0,77	1,96±0,67*	0,8 ± 0,43*^	0,71±0,63*^
Индекс Рассела	3,99±1,28	3,55±0,99	3,14±0,89*	3,09±0,83*
ПМА %	64,53±7,23	38,87±8,71**	11,38 ± 5,4**^^	9,73±2,48**^^ ^
Глубина пародонтальных карманов, мм	2,86±1,48	2,66±0,8	2,51±1,1	2,48±0,7
Подвижность зубов	0,25±0,42	0,2±0,35	0,18 ± 0,32	0,18 ± 0,27

* различия статистически значимы в сравнении с данными (до лечения) при $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**). ^ - различия статистически значимы с данными (через 14 дней) при $p < 0,05$ (^), $p < 0,01$ (^^). При сравнении между группами проверка статистических гипотез проводилась с использованием критерия Вилкоксона и Sign-Test для зависимых выборок.

Таблица 39 - Индексная оценка гигиены полости рта и состояния тканей пародонта больных пародонтитом средней степени тяжести на фоне лечения ($M \pm \sigma$)

Исследуемый показатель	До лечения	Через 14 дней от начала лечения	Через 1 месяц от начала лечения	Через 3 месяца от начала лечения
ИЗН	1,79±0,80	0,96±0,46 **	0,55±0,19 **^^	0,62±0,33 **^
ИЗК	1,65±0,89	1,23±0,67 *	0,12±0,1 **^^	0,13±0,1 **^^
ИГ	3,44±1,37	2,19±0,72 **	0,67±0,19 **^^	0,75±0,74 **^^
Индекс кровоточивости	2,93±0,62	2,03±0,42*	0,98±0,56*^	1,00±0,59*^
Индекс Рассела	5,21±0,67	4,84±0,68	4,41±0,74*	4,48±1,03*
ПМА %	67,17±5,61	43,27±4,23 *	18,89±4,18 **^^	12,47±4,08 **^^
Глубина пародонтальных карманов, мм	3,77±0,87	3,74±0,88	3,68±0,73	3,65±0,64
Патологическая подвижность зубов	1,26±0,3	1,17±0,3	1,12±0,29	1,01±0,31

* различия статистически значимы в сравнении с данными (до лечения) при $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**). ^ - различия статистически значимы с данными (через 14 дней) при $p < 0,05$ (^), $p < 0,01$ (^^). При сравнении между группами проверка статистических гипотез проводилась с использованием критерия Вилкоксона и Sign-Test для зависимых выборок.

Т а б л и ц а 40 - Индексная оценка гигиены полости рта и состояния тканей пародонта больных пародонтитом тяжелой степени на фоне лечения ($M \pm \sigma$)

Исследуемый показатель	До лечения	Через 14 дней от начала лечения	Через 1 месяц от начала лечения	Через 3 месяца от начала лечения
ИЗН	1,79±0,90	1,05±0,64 **	0,63±0,45 **^^	0,66±0,17 **^^
ИЗК	1,69±0,85	1,01±0,67 **	0,47±0,32 **^^	0,46±0,27 **^^
ИГ	3,48±1,44	2,06±0,38 **	1,10±0,35 **^^	1,12±0,42 **^^
Индекс кровоточивости	2,89±0,71	2,08±0,7 *	0,93±0,86 *^	0,91±0,52 *^
Индекс Рассела	5,95±0,89	5,81±0,9	5,09±1,14*^	5,06±1,01*^
ПМА %	64,23±7,14	42,21±4,66 *	18,68±5,45 *^^	11,36±5,4 **^
Глубина пародонтальных карманов, мм	5,11±1,14	5,11±0,89	5,06±1,02	4,98±1,07
Патологическая подвижность зубов	2,7±0,52	2,46±0,46	1,87±0,6*^	1,6±0,52*^

* различия статистически значимы в сравнении с данными (до лечения) при $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**). ^ - различия статистически значимы с данными (через 14 дней) при $p < 0,05$ (^), $p < 0,01$ (^^). При сравнении между группами проверка статистических гипотез проводилась с использованием критерия Вилкоксона и Sign-Test для зависимых выборок.

Статистически значительно уменьшилось значение индекса кровоточивости у всех пациентов, что так же подтверждало снижение тяжести процесса и отражало положительный характер динамики показателя. После оценки показателей состояния полости рта было продолжено антимикробное нехирургическое лечение, которое включало удаление поддесневых зубных отложений, грануляционной ткани, шлифовку и полировку корней зубов, обработку пораженных фуркаций зубов, медикаментозную антисептическую обработку, продолжали контролировать гигиенические навыки пациентов, некоторым пациентам выполняли временное шинирование зубов.

Через 1 месяц после начала лечения все пациенты отмечали значительное улучшение ситуации в полости рта, отсутствии отека, боли, красноты десен, кровоточивости при чистке зубов и приеме жесткой пищи, прекращение гноетечения из пародонтальных карманов, некоторые больные отмечали уменьшение подвижности зубов. При регистрации показателей гигиены полости рта и состояния тканей пародонта через 1 месяц после начала терапии, было отмечено статистически значимое снижение индексов зубного налета, зубного камня, индекс оральной гигиены составил 0,7; 0,67; 1,1 (соответственно степени тяжести пародонтита) и характеризовался как удовлетворительное санитарное состояние полости рта. Индекс ПМА снизился более чем на 22%. Значение данного индекса наименьшим было у пациентов с легкой степенью тяжести (9,73%), у больных средней и тяжелой степенью тяжести пародонтита - на уровне 11-12%, эти значения свидетельствовали о сохранении зон воспаления. Индекс кровоточивости так же снизился у всех обследованных, только в группе со средней степенью тяжести заболевания был равен 1 баллу. Динамика данного индекса подтверждает снижение тяжести воспаления в пародонте пациентов, но нулевых значений на фоне проводимого лечения не зафиксировано. Тем не менее, на данном сроке от начала активного лечения, статистически значимо уменьшился пародонтальный индекс Рассела. Данный показатель является комплексным и, учитывая характер и сроки проведенной терапии, его

уменьшение возможно только за счет снижения интенсивности и распространенности симптоматического гингивита. Для значения показателя глубины пародонтальных карманов отмечается тенденция очень незначительного уменьшения у всех пациентов, что объясняется уменьшением выраженности отека десневого края вследствие лечения. Подобная тенденция прослеживается и для патологической подвижности зубов, у пациентов с тяжелой степенью пародонтита этот показатель значительно снизился по сравнению с первым и вторым сроком регистрации данных, так как некоторым из больных уже было выполнено временное шинирование зубов. Среди лиц с тяжелой степенью болезни, нуждающихся в такой манипуляции было больше.

Дальнейшие лечебные манипуляции заключались в устранении ретенционных пунктов для фиксации зубной бляшки (кариозные полости, некачественные реставрации и ортопедические конструкции), коррекции аномалий прикрепления уздечек губ, щечных тяжей, мелкого преддверия полости рта, временном и полупостоянном шинировании зубов, изготовлении временных замещающих протезов, контроле гигиенических навыков. Данный этап базового лечения для всех пациентов имел разную продолжительность, но в среднем занял 2 месяца. По окончании данного этапа была проведена оценка гигиены полости рта и состояния тканей пародонта. Как видно из представленных выше данных, у всех пациентов сохранилась мотивация к поддержанию удовлетворительной гигиены полости рта, все остальные изученные показатели, имели незначительную тенденцию к улучшению, но, ни в одном случае, не изменились статистически значимо. Пациенты по-прежнему отмечали значительное улучшение состояния полости рта, при обследовании у некоторых больных, не зависимо от степени тяжести пародонтита, определялись зоны десны, где при тщательном инструментальном обследовании сохранялась кровоточивость минимальной степени. Там при визуальном осмотре можно было различить зоны гиперемии, что реализовалось в значениях индексов кровоточивости и ПМА на данном

этапе регистрации. Сопоставляя темпы снижения индексов кровоточивости, ПМА со значимым позитивным снижением пародонтального индекса удалось установить, что индекс ПМА, имевший самые большие числовые значения, снизился на 53% - 48% - 45% (соответственно степени тяжести пародонтита), а индекс кровоточивости на 2,1 – 1,95 – 1,96 (соответственно степени тяжести пародонтита) баллов. При интерпретации индекса РМА за 1 балл (33,3%) принято воспаление одной из зон десны, таким образом, снижение показателя данного индекса на 33.3% свидетельствует об устранении воспаления целой зоны десны (соответственно папиллярной, маргинальной или альвеолярной части). Снижение показателя индекса кровоточивости на 2 балла (2 балла от 4 баллов - 50%) подтверждает снижение тяжести воспаления вдвое. Клинически значимый эффект отмечался несмотря на сохранение ИК в пределах 0,9 баллов и признаков гингивита в одной третьей части зоны десны у лиц с легкой степенью тяжести, в одной второй части зоны десны у лиц со средней и тяжелой степенью заболевания (согласно ПМА).

В целом, на первых 3 этапах лечения улучшались значения гигиенического индекса, индекса ПМА и индекса кровоточивости у всех пациентов (таблицы 41, 42 43).

Т а б л и ц а 41 - Дисперсионный анализ некоторых показателей состояния тканей пародонта больных пародонтитом легкой степени на фоне лечения

Показатель	ANOVA		
	df	χ^2	<i>p</i>
ИЗН (баллы)	3	8,63	<0,013*
ИЗК (баллы)	3	9,81	<0,007*
ИГ (баллы)	3	13,59	<0,001*
Индекс кровоточивости (баллы)	3	12,81	<0,005*
ПМА %	3	13,41	<0,001*
Индекс Рассела (баллы)	3	4,00	<0,14

* - статистически значимые изменения показателя в течение первых 3 этапов регистрации данных при $p < 0,05$ (ANOVA Фридмана для зависимых выборок).

Т а б л и ц а 42 - Дисперсионный анализ некоторых показателей состояния тканей пародонта больных пародонтитом средней степени на фоне лечения

Показатель	ANOVA		
	df	χ^2	<i>p</i>
ИЗН (баллы)	3	8,67	<0,014*
ИЗК (баллы)	3	9,92	<0,007*
ИГ (баллы)	3	13,41	<0,001*
Индекс кровоточивости (баллы)	3	11,89	<0,005*
ПМА %	3	13,55	<0,001*
Индекс Рассела (баллы)	3	3,81	<0,32

* - статистически значимые изменения показателя в течение первых 3 этапов регистрации данных при $p < 0,05$ (ANOVA Фридмана для зависимых выборок).

Т а б л и ц а 43 - Дисперсионный анализ некоторых показателей состояния тканей пародонта больных пародонтитом тяжелой степени на фоне лечения

Показатель	ANOVA		
	df	χ^2	<i>p</i>
ИЗН (баллы)	3	8,57	<0,013*
ИЗК (баллы)	3	9,72	<0,006*
ИГ (баллы)	3	12,41	<0,001*
Индекс кровоточивости (баллы)	3	10,46	<0,005*
ПМА %	3	13,81	<0,001*
Индекс Рассела (баллы)	3	4,81	<0,41

* - статистически значимые изменения показателя в течение первых 3 этапов регистрации данных при $p < 0,05$ (ANOVA Фридмана для зависимых выборок).

Сопоставляя направленность, темпы, с которыми происходило изменение индексов, характеризующих гигиеническое состояние полости рта, интенсивность и распространенность воспаления тканей пародонта, необходимо отметить, что они практически совпадали у пациентов с различной степенью тяжести пародонтита. И в одинаковой мере индексы кровоточивости и ПМА не достигли нулевых значений. Динамика индексов гигиены полости рта, кровоточивости, ПМА, ПИ Рассела представлены на рисунках (рисунки 5, 6, 7, 8).

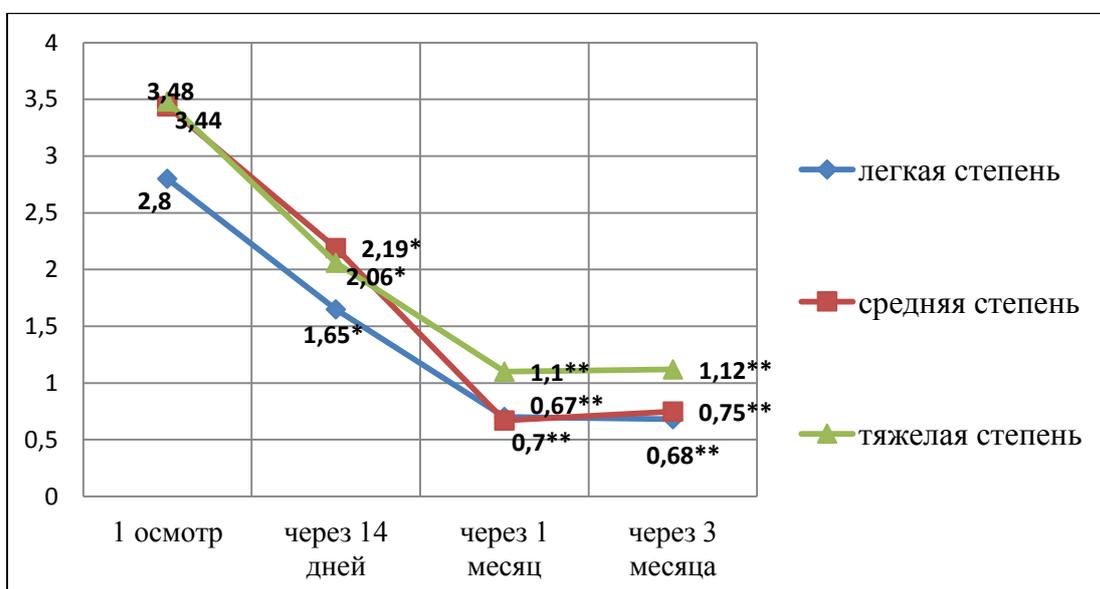


Рисунок 5 - Динамика индекса гигиены у лиц с различной степенью тяжести пародонтита. *- статистически значимые изменения показателя по сравнению с состоянием до лечения при $p < 0,05$; ** - при $p < 0,01$

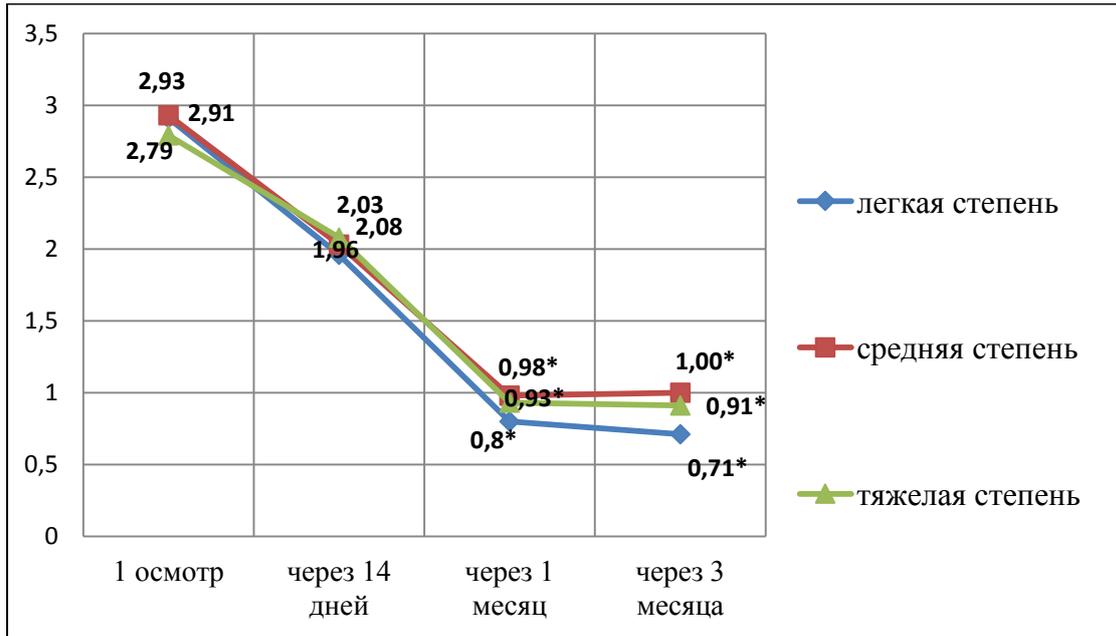


Рисунок 6 - Динамика значения индекса кровоточивости ИК у лиц с различной степенью тяжести пародонтита.

*- статистически значимые изменения показателя по сравнению с состоянием до лечения при $p < 0,05$.

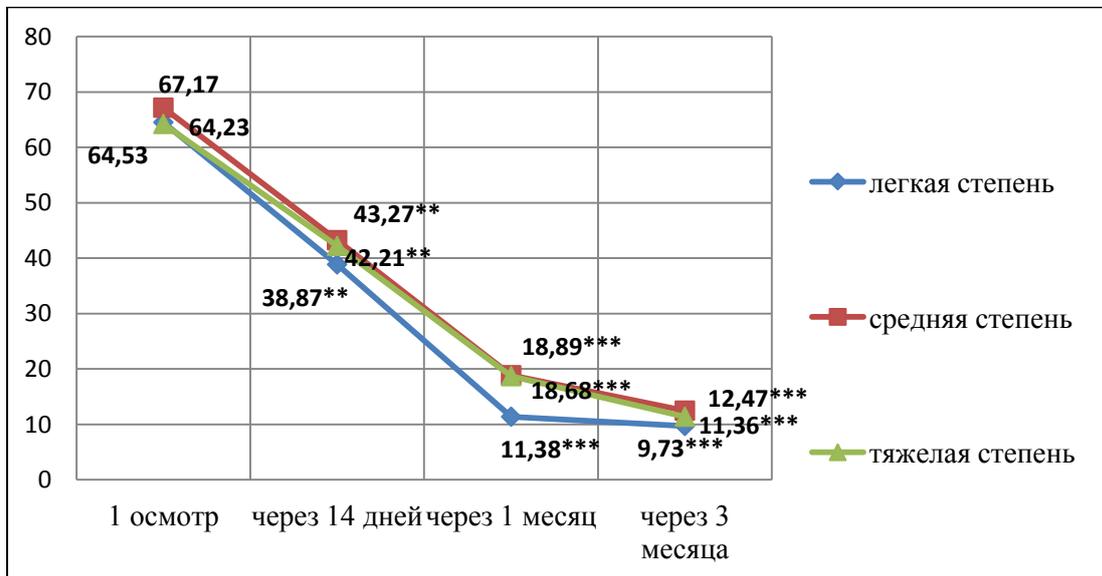


Рисунок 7 - Динамика значения индекса ПМА у лиц с различной степенью тяжести пародонтита.

*- статистически значимые изменения показателя по сравнению с состоянием до лечения при $p < 0,05$; ** - при $p < 0,01$; *** - при $p < 0,001$.

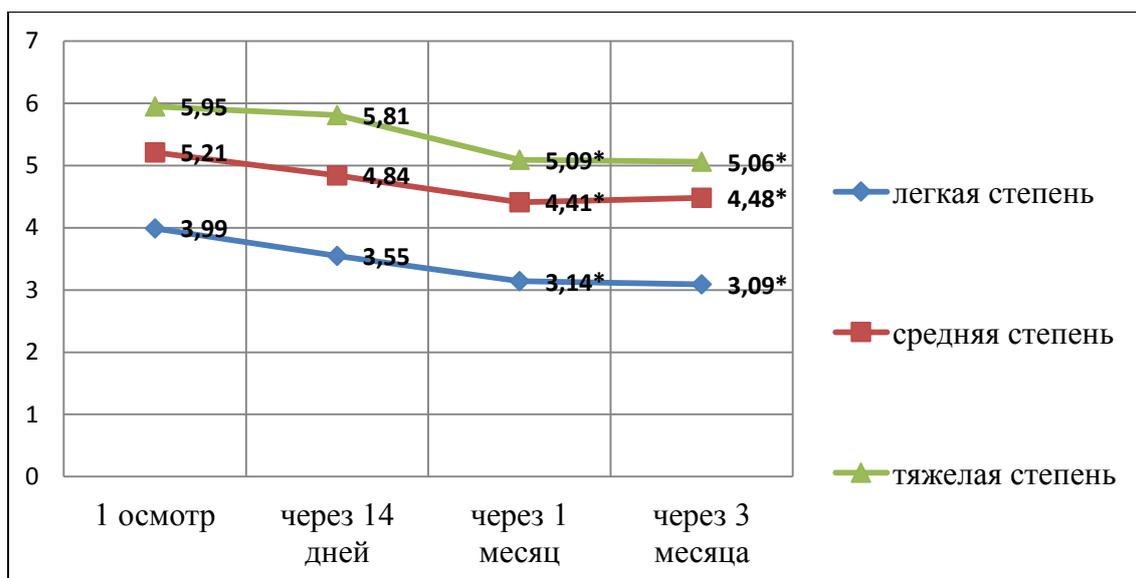


Рисунок 8 - Динамика значения пародонтального индекса Рассела у лиц с различной степенью тяжести пародонтита.

*- статистически значимые изменения показателя по сравнению с состоянием до лечения при $p < 0,05$; ** - при $p < 0,01$.

Динамика пародонтальных индексов у пациентов с различным характером течения пародонтита представлена на рисунках (рисунках 9, 10, 11). Направленность и темпы снижения значений клинических индексов ПМА, ИК, ПИ у лиц с разным характером течения пародонтита, в целом, совпадают. Значение индекса ПИ статистически значимо уменьшается через 1 месяц после начала лечения во всех группах пациентов. При этом самая благоприятная динамика всех изучаемых индексов, отражающих выраженность воспаления, отмечается в группе пациентов с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита. Самые высокие значения изучаемых индексов регистрируются в группе пациентов с «агрессивным» течением пародонтита через 1 месяц и 3 месяца после начала лечения. В группе пациентов с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита, несмотря на высокие значения изучаемых индексов до начала лечения, к завершению лечения значения индексов ПМА и ИК приближаются к аналогичным значениям в группе с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита и в обеих группах приближаются к нулевым значениям.

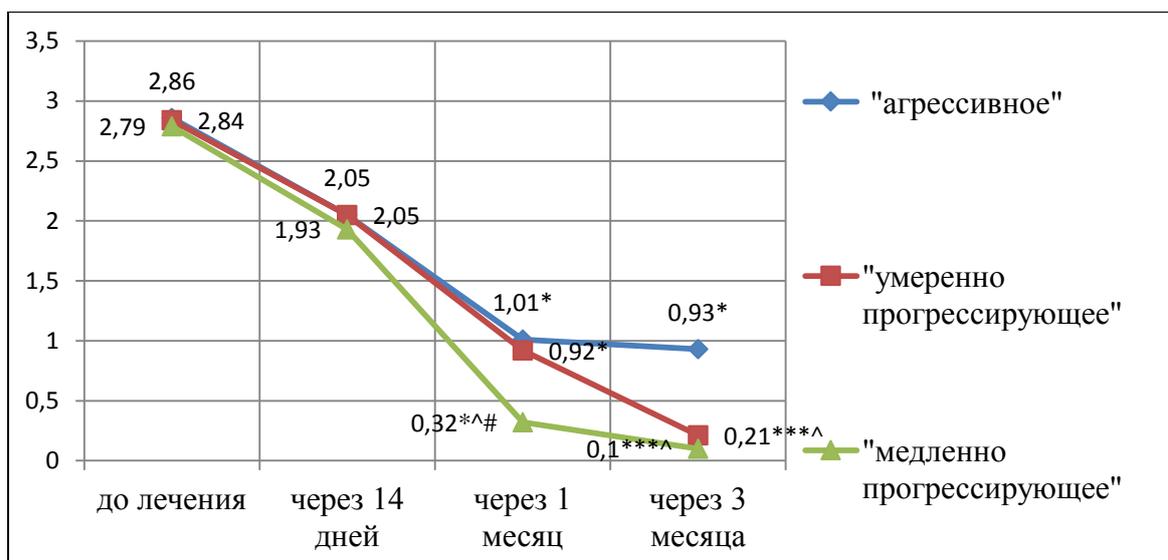


Рисунок 9 - Динамика индекса кровоточивости ИК у лиц с разным характером течения пародонтита под влиянием курса базовой терапии.

*- статистически значимые изменения показателя по сравнению с состоянием до лечения при $p < 0,05$; ** - при $p < 0,01$; *** - при $p < 0,001$

^ - статистически значимые изменения показателя по сравнению с группой с «агрессивным» течением пародонтита при $p < 0,05$

- статистически значимые изменения показателя по сравнению с группой с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита при $p < 0,05$

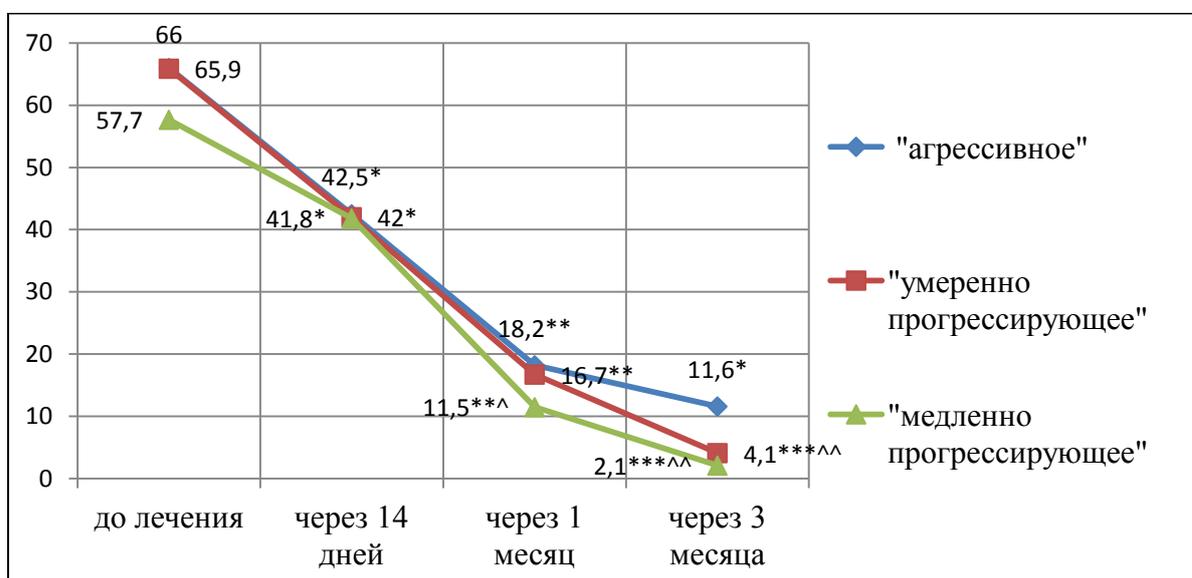


Рисунок 10 - Динамика индекса ПМА у лиц с разным характером течения пародонтита под влиянием курса базовой терапии.

*- статистически значимые изменения показателя по сравнению с состоянием до лечения при $p < 0,05$; ** - при $p < 0,01$; *** - при $p < 0,001$

^ - статистически значимые изменения показателя по сравнению с группой с «агрессивным» течением пародонтита при $p < 0,05$

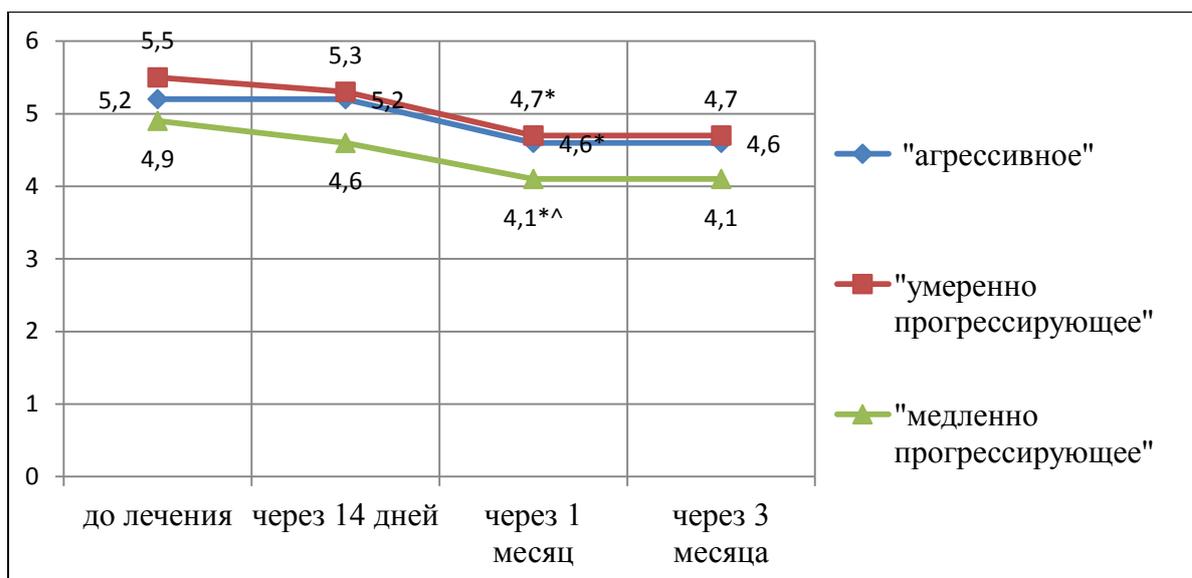


Рисунок 11 - Динамика пародонтального индекса Рассела у лиц с разным характером течения пародонтита под влиянием курса базовой терапии.

*- статистически значимые изменения показателя по сравнению с состоянием до лечения при $p < 0,05$

^ - статистически значимые изменения показателя по сравнению с группой с «агрессивным» течением пародонтита при $p < 0,05$.

При повторной оценке состояния биотопа полости рта после проведения базового курса терапии установлено, что у всех больных степень дисбиоза статистически значимо снизилась (табл. 44).

Т а б л и ц а 44 - Степень дисбиоза полости рта у больных пародонтитом после проведения базового курса терапии

Степень тяжести пародонтита \ Степень дисбиоза полости рта (в %)	Легкая степень до лечения (n=11)	Легкая степень после лечения (n=11)	χ^2 , уровень p
Дисбиоз I-II степени	36,4	63,6	18,187 $\sqrt{2}$ $p=0,0001^*$
Дисбиоз III степени	45,5	36,4	
Дисбиоз IV степени	18,1	-	
Всего:	100	100	

Продолжение таблицы 44

Степень тяжести пародонтита / Степень дисбиоза полости рта (в %)	Средняя степень до лечения (n=17)	Средняя степень после лечения (n=17)	χ^2 , уровень p
Дисбиоз I-II степени	29,4	55,8	18,071 $\sqrt{=2}$ $p=0,0001^*$
Дисбиоз III степени	47,1	41,2	
Дисбиоз IV степени	23,5	-	
Всего:	100	100	
Степень тяжести пародонтита / Степень дисбиоза полости рта (в %)	Тяжелая степень до лечения (n=16)	Тяжелая степень после лечения (n=16)	χ^2 , уровень p
Дисбиоз I-II степени	12,5	47,5	17,045 $\sqrt{=2}$ $p=0,0001^*$
Дисбиоз III степени	68,7	52,5	
Дисбиоз IV степени	18,8	-	
Всего:	100	100	

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

3.3 Анализ результатов проведения базового курса терапии у больных с различным клиническим течением пародонтита

В результате проведения базового курса терапии решены следующие клинические задачи: купированы клинические признаки активного воспаления в тканях пародонта, что сопровождается улучшением состояния рта пациентов, отсутствием жалоб, связанных с выраженностью воспаления (кровоточивость десен, отек, боль, гноетечение, подвижность зубов) и подтверждается значениями пародонтальных индексов. Нормализация функций органов полости рта достигалась за счет временного, полупостоянного, постоянного шинирования подвижных зубов, лечения кариозных поражений, лечения осложнений кариеса, удаления бесперспективных зубов, замены и изготовления временных или постоянных

ортопедических конструкций, а также за счет устранения аномалий строения мягких тканей полости рта. Не зависимо от степени тяжести пародонтита, темпы снижения выраженности воспаления, определяемые клинически, совпадали. При формировании групп пациентов в зависимости от характера течения пародонтита вышеописанные закономерности сохраняются, но для пациентов с «агрессивным» течением болезни характерны статистически значимо более высокие значения индексов к окончанию лечения и наиболее низкие темпы снижения выраженности клинических признаков воспаления. Согласно классификации болезней пародонта, характер течения хронического пародонтита, клинически определяемый у группы пациентов к окончанию базового лечения, квалифицировался как ремиссия (отсутствие признаков воспаления после проведенного лечения).

Помимо эффективности терапии, оценивали развитие нежелательных эффектов на фоне проводимого лечения, которые были отмечены у 64 пациентов (42%), проявлявшиеся в повышении чувствительности твердых тканей зубов. Нежелательные эффекты устранялись в процессе лечения путем дополнительного назначения процедур глубокого фторирования и зубной пасты с соответствующим эффектом. Нежелательные явления не привели к исключению пациентов из исследования.

Из биологических целей курса лечения достигнуто снижение бактериальной нагрузки в полости рта у всех пациентов. На фоне проведенного лечения у всех пациентов сформированы и закреплены гигиенические навыки. Результаты оценки гигиенического состояния рта значительно улучшались на этапах терапии и к концу базового лечения сохранялись стабильно «удовлетворительными», что подтверждается данными исследования биотопа полости рта.

Обобщая данные, полученные в результате оценки непосредственных эффектов базового курса терапии больных хроническим генерализованным пародонтитом, были сделаны следующие выводы: базовый курс терапии

обладает хорошей эффективностью в отношении купирования клинических симптомов; клиническая ремиссия ко дню окончания лечения наступает у 66,2% больных в полной мере и у 33,8% больных с минимальными признаками кровоточивости и гиперемии, определяемыми только при инструментальном обследовании врачом, при отсутствии жалоб со стороны пациента; клиническая эффективность терапии отличается при различных вариантах течения пародонтита. У лиц с «агрессивным» течением пародонтита более высокие значения индексов к окончанию лечения и наиболее низкие темпы снижения выраженности клинических признаков воспаления, что имеет статистическую достоверность. Клинические симптомы пародонтита редуцируются под влиянием базовой терапии наиболее полно и быстро у пациентов с «медленно прогрессирующим» течением болезни. При этом пациенты, имеющие неодинаковое течения пародонтита различаются по генетическим характеристикам, что также имеет статистическую достоверность.

Оценка эффективности базовой терапии пародонтита с акцентом только на клинические симптомы без оценки динамики структурных изменений слизистой оболочки десны не позволяет получить полной картины проявлений болезни. Не ясно, чем будет определяться течение заболевания в период после базового курса терапии, и на какой срок ремиссии можно надеяться, учитывая, что одной из целей лечения является профилактика осложнений и рецидивов заболевания. И в случае возникновения рецидива болезни, что будет определять дальнейший прогноз для пациента: характер проведенного лечения, реинфекция пародонтальных карманов вследствие снижения мотивации к соблюдению полученных гигиенических навыков или сложившиеся взаимоотношения инфекта и хозяина, зависящие от индивидуальных, в том числе генетических, характеристик макроорганизма.

При сравнении уровня цитокинов в сыворотке крови в группах у больных с выделенными типами клинического течения болезни статистически значимых различий (по критерию Манна – Уитни) не установлено.

Корреляционный анализ позволил выявить взаимосвязи между продукцией уровня различных цитокинов в пределах одной клинической группы. Так, между уровнем IL-1 β в сыворотке крови и уровнем IL-4 отмечена прямая средняя корреляционная связь ($r=0,52$ $t(N-2)=3,37$, $p<0,002$). Можно предположить, что повышенная выработка IL-1 β , связанная с носительством полиморфных аллелей гена *IL-1 β* или с носительством короткого аллеля *2R IL-1RN (VNTR интрон 2)* сопровождается повышенной выработкой и IL-4 в ходе реализации воспаления. Многие известные цитокины демонстрируют идентичность биологических эффектов и могут компенсировать собой недостаток других медиаторов воспаления.

В связи с изложенным, оценка системного уровня продукции цитокинов у больных пародонтитом, на наш взгляд, мало информативна. Нарастание уровня изучаемых цитокинов в сыворотке крови проявляется воздействием на мишени в тканях пародонта и обуславливает особенности гистопатологической картины. Важнейшие свойства IL-1 - стимуляция пролиферации преактивированных антигеном зрелых Т-лимфоцитов, увеличение продукции IL-2, IL-4, TNF α , стимуляция фагоцитоза – хорошо известны и освещены в литературе. Основными клетками-продуцентами IL-1, TNF α , IL-4 в организме являются моноциты/макрофаги, а также Т- и В-лимфоциты, нейтрофильные лейкоциты, клетки эндотелия.

Очевидна необходимость детального анализа реализации воспаления у больных пародонтитом с разными клиническими проявлениями и разными генетическими характеристиками на структурном уровне, то есть в органе – «мишени» - слизистой оболочке десны с оценкой клеток воспалительного инфильтрата, которые являются непосредственным источником и/или мишенью для цитокинов, а также популяции эпителиальных клеток, реагирующих опосредованно.

ГЛАВА 4

АССОЦИАЦИЯ ВАРИАНТОВ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ И ОСОБЕННОСТЕЙ ГИСТОПАТОЛОГИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДЕСНЫ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ; АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ

Выполнение гистологического исследования биоптатов слизистой оболочки десны пациентов осуществляли до начала лечения и по окончании каждого этапа базового курса терапии. Первичное морфологическое исследование проводили для установления характера структурных изменений в слизистой оболочке десны у больных пародонтитом до инициации лечения. При повторном морфологическом исследовании оценивали структурные изменения, происходившие в слизистой оболочке десны под влиянием базовой терапии, так как происходило поэтапное снижение бактериальной нагрузки (действия этиологического фактора) в полости рта, а также анализировали структурные изменения, происходившие в слизистой оболочке десны в динамике после завершения базового курса терапии через два и двенадцать месяцев.

В биоптатах оценивали следующие микроскопические признаки: степень выраженности воспалительного инфильтрата, его клеточный состав и распределение в компартаментах слизистой оболочки десны; степень выраженности акантоза.

4.1 Характеристика гистологической картины биоптатов слизистой оболочки десны больных хроническим пародонтитом до инициации терапии

При первичном обследовании в биоптатах десны определялось увеличение объемной доли эпителиального компартамента за счет выраженного (66 биоптатов) и умеренного (54 биоптата) акантоза. При

выраженной степени акантоза за счет значительного повышения количества клеток в шиповатом слое зафиксировано утолщение пласта многослойного плоского эпителия в 4 – 5 раз превышающее толщину эпителиального компартмента здоровой десны. Утолщение эпителиального пласта сопровождалось глубоким погружением эпителиальных гребешков в собственную пластинку слизистой оболочки десны (рисунок 12). В отдельных полях зрения акантотические тяжи анастомозировали между собой, в других полях зрения акантотические тяжи представляли структуры с регулярным расположением эпителиальных гребешков. Акантоз умеренной степени определяли, если утолщение эпителиального пласта в 2 – 3 раза превышало толщину эпителиального компартмента слизистой оболочки здоровой десны, а эпителиальные гребешки утолщались, приобретали преимущественно регулярный характер и только в отдельных полях зрения акантотические тяжи анастомозировали между собой. В остальных 34 биоптатах выраженность акантоза оценивалась нами как слабая.

В большинстве биоптатов в эпителиальном компартменте слизистой оболочки десны в пределах нескольких слоев шиповатых клеток в базальной и супрабазальной области многослойного плоского эпителия определялось расширение межклеточных контактов эпителиоцитов с формированием участков спонгиоза. В более высоко расположенных слоях эпителиального пласта определялись явления гидропической дистрофии в виде светооптически пустых вакуолей в цитоплазме клеток, смещенных на периферию гиперхромных сморщенных ядер (рисунок 13). При большом увеличении на фоне выраженного межклеточного отека отмечалось сморщивание цитоплазмы в эпителиоцитах, четко контурировались тонкие шиповатые отростки межклеточных контактов (рисунок 14, 15). Часто, в шиповатом слое многослойного плоского эпителия десны в воспалительном инфильтрате преобладали нейтрофильные лейкоциты (рисунок 16). В отдельных участках поверхностных слоев эпителия встречались скопления микроорганизмов (рисунок 17). Фиксировались биоптаты, в которых наряду с

выраженной инфильтрацией в поверхностных отделах многослойного плоского эпителия десны нейтрофильные лейкоциты образовывали очаговые скопления, вызвавшие фокальные некрозы с формированием микроабсцессов (рисунок 18, 19). Отмечалась очаговая гидропическая дистрофия эпителиоцитов десны в местах скоплений нейтрофильных лейкоцитов (рисунок 20). При подобной микроскопической картине степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами в биоптатах слизистой оболочки десны оценивалась нами как выраженная (60 биоптатов).

Степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами в биоптатах слизистой оболочки десны оценивалась нами как умеренная, при наличии диффузно расположенных нейтрофильных лейкоцитов в поверхностных отделах многослойного плоского эпителия десны без признаков массивного разрушения в виде зон некроза (57 биоптатов) (рисунок 21).

В собственной пластинке слизистой оболочки десны отмечались явления отека соединительной ткани. Наблюдались признаки гиперваскуляризации слизистой оболочки десны. К ним относили выраженное полнокровие кровеносных капилляров, расположенных в собственной пластинке слизистой. В отечной строме выявлялись тонкостенные сосуды с расширенным просветом. Стенки капилляров были представлены крупными эндотелиоцитами с хорошо развитым бледно окрашенным ядром и скудной эозинофильной цитоплазмой. В сосудах в ряде случаев определялись признаки стаза эритроцитов. В ряде биоптатов в просвете сосудов обнаруживались нейтрофильные лейкоциты, с признаками экстравазации в перисосудистое пространство.

В тех случаях, когда в компартментах слизистой оболочки десны нейтрофильные лейкоциты встречались в виде небольших очаговых скоплений или располагались диффузно на фоне значительно преобладающих по количеству моноклеарных клеток, степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами оценивали, как слабую (41 биоптат).

Воспалительная клеточная инфильтрация мононуклеарными клетками обнаруживалась во всех компартментах слизистой оболочки десны (рисунок 22).

В 74 биоптатах определялся воспалительный клеточный инфильтрат высокой плотности (рисунок 23), состоящий из лимфоцитов, макрофагов и плазматических клеток с эксцентрично расположенным ядром, содержащим диспергированный хроматин и хорошо развитую цитоплазму с базофильным оттенком (рисунок 24). В зонах выраженной инфильтрации имелась тенденция к образованию подобия лимфоидных фолликулов (рисунок 25). Подобные морфологические изменения оценивали, как выраженную степень инфильтрации мононуклеарными клетками. Частым морфологическим признаком было наличие грануляционной ткани в собственной пластинке слизистой оболочки десны (рисунок 26).

Степень выраженности инфильтрации мононуклеарными клетками оценивали, как умеренную, когда в собственной пластинке слизистой оболочки десны определялся диффузный клеточный инфильтрат, доминировала лимфоцитарная инфильтрация (54 биоптата).

В небольшом количестве биоптатов (24 биоптата) степень инфильтрации мононуклеарными клетками оценивалась как слабая, инфильтрат состоял из мононуклеарных клеток, среди которых встречались преимущественно лимфоциты и макрофаги и такие фокусы воспалительной инфильтрации имели тенденцию к периваскулярной локализации, особенно в области сосудов, близко подходящих к базальной мембране эпителия десны (рисунок 27).

В большинстве биоптатов, непосредственно под базальной мембраной эпителия располагались множественные тонкостенные сосуды с расширенным просветом. Капилляры, находящиеся в поле зрения, были заполнены форменными элементами крови, фиксировались признаки миграция клеток через стенки сосудов (рисунок 28), экзоцитоз клеток воспалительного инфильтрата в эпителиальный компартмент десны.

В целом, до лечения в биоптатах больных пародонтитом определялась неоднородная морфологическая картина. Многослойный плоский эпителий характеризовался расширением эпителиального компартмента, толщина которого была неравномерной, с явлениями гиперплазии клеток шиповатого слоя и формированием акантоза, носившего преимущественно нерегулярный характер. Степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами эпителиального компартмента слизистой оболочки в биоптатах десны оценивалась как выраженная или умеренная, реже – слабая. Изменения в собственной пластинке слизистой оболочки десны сводились к выраженному отеку, наличию полиморфноклеточного воспалительного инфильтрата, скоплению мононуклеарных клеток разной степени плотности, формированию грануляционной ткани.

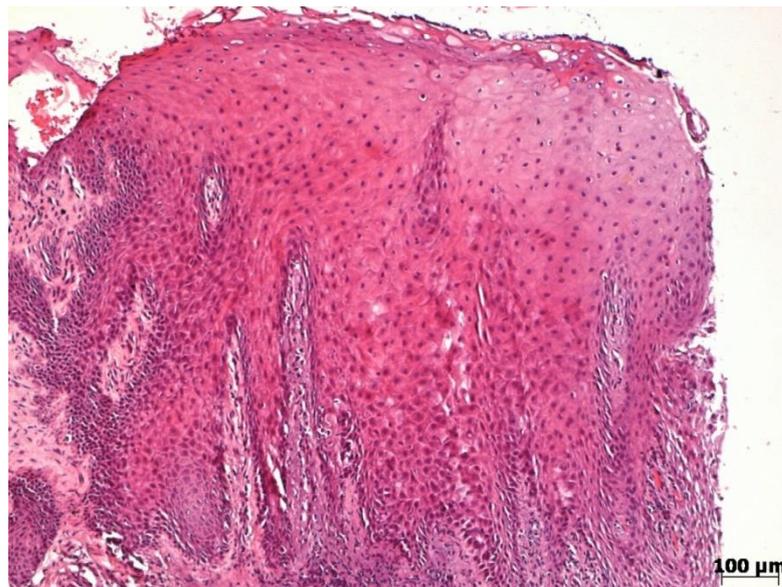


Рисунок 12 - Выраженный акантоз многослойного плоского эпителия в биоптате десны с умеренно выраженной мононуклеарной воспалительной инфильтрацией у больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β -511T*; *IL-1 β +3953C*; *IL-1RN 2R*; *TNF α -308A*; *IL-4 3R/3R*) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, x100.

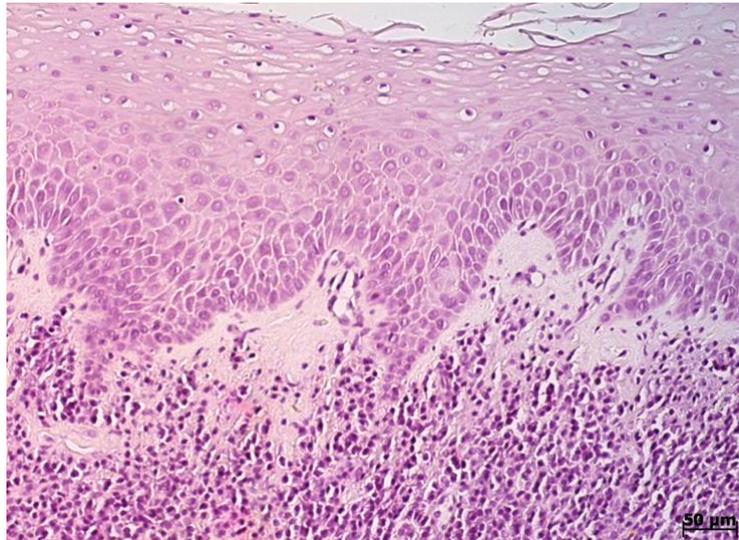


Рисунок 13 - Признаки слабовыраженного акантоза, гидропическая дистрофия в верхних слоях эпителиоцитов, умеренно выраженный инфильтрат в биоптате десны больного пародонтитом с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNF α* -308G; *IL-4* 2R/3R) до инициации базового лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

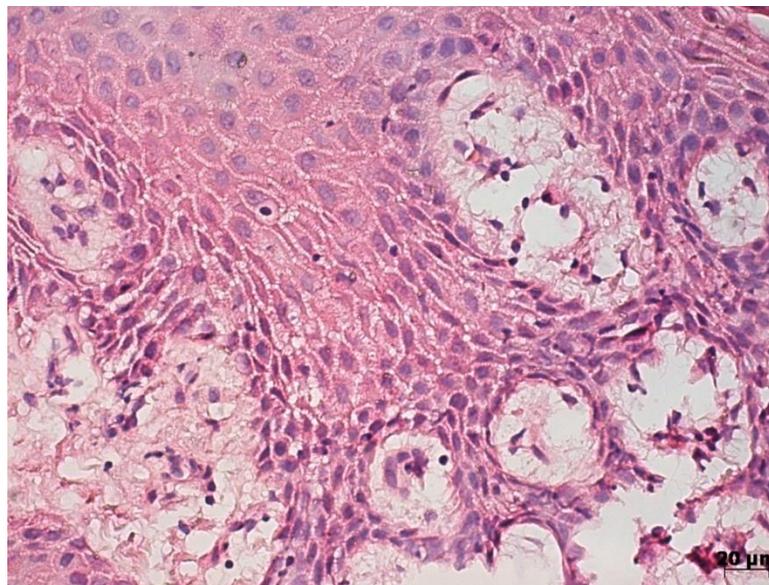


Рисунок 14 - Межклеточный отек, расширение межклеточных контактов эпителиоцитов в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNF α* -308A; *IL-4* 3R/3R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

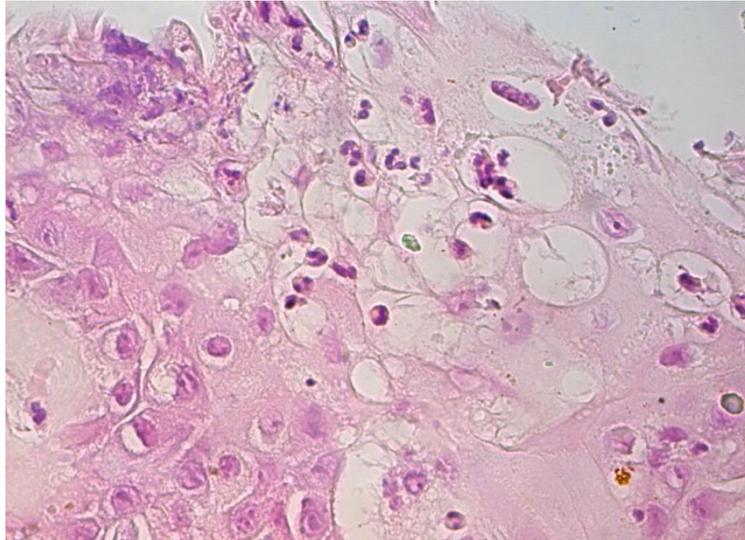


Рисунок 15 - Гидропическая дистрофия эпителиоцитов в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β -511T*; *IL-1 β +3953T*; *IL-1RN 4R*; *TNF α -308A*; *IL-4 3R/2R*) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, х630.

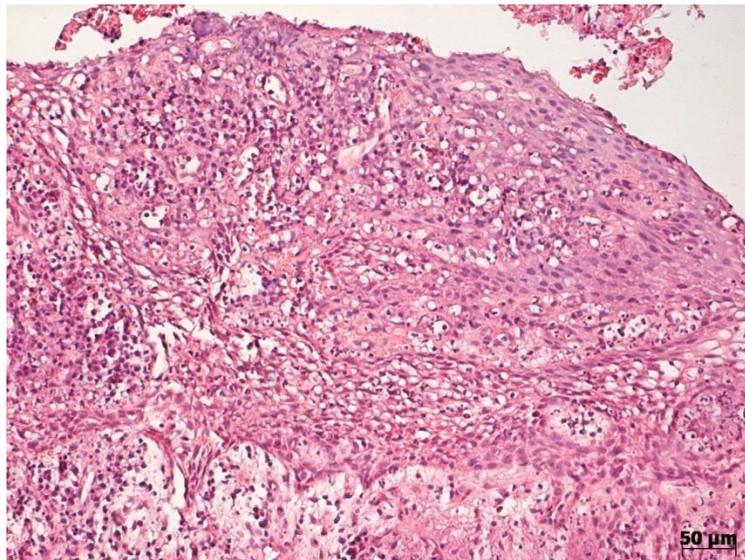


Рисунок 16 - Гидропическая дистрофия всех слоев эпителиального компартмента слизистой оболочки десны, выраженный лейкодиapedез в эпителии в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β -511T*; *IL-1 β +3953C*; *IL-1RN 2R*; *TNF α -308A*; *IL-4 3R/3R*) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, х200.

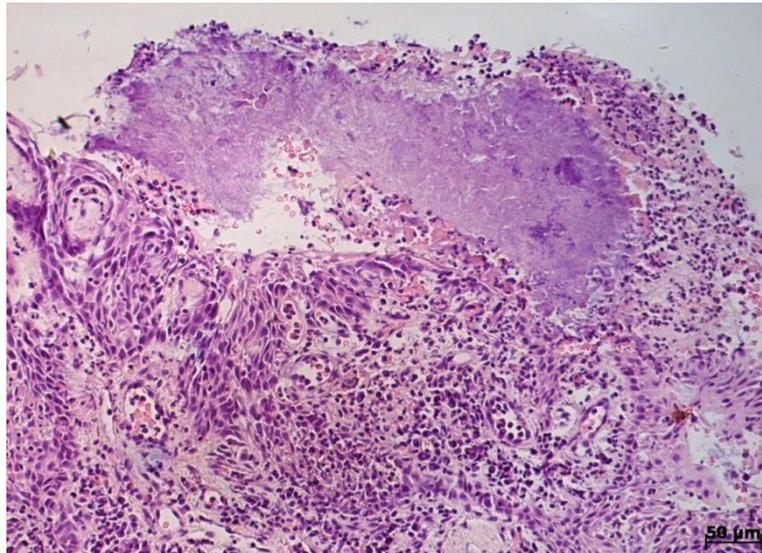


Рисунок 17 - Выраженная инфильтрация эпителиального компартамента многослойного плоского эпителия нейтрофильными лейкоцитами, тканевой детрит и колонии микроорганизмов в поверхностном слое эпителия в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNF α* -308A; *IL-4* 3R/2R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, x200.

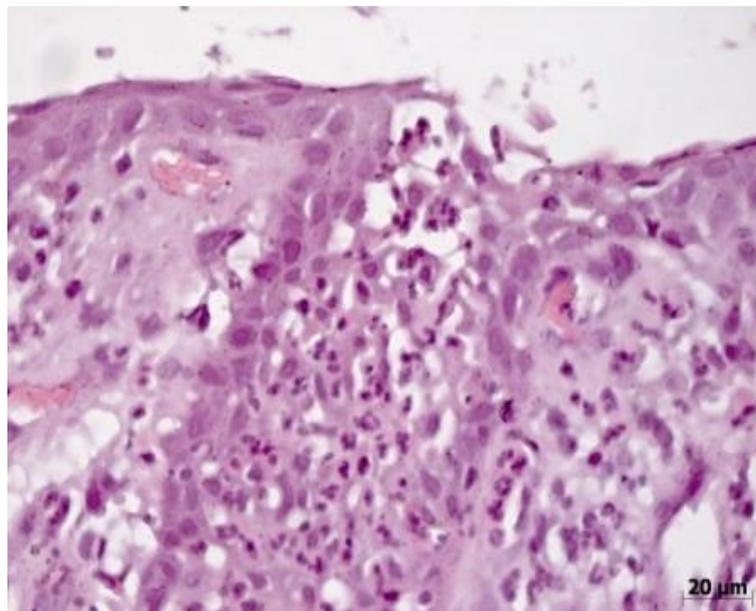


Рисунок 18 - «Микроабсцесс» в акантотическом тяже эпителия десны, рассеянная лейкоцитарная инфильтрация в субэпителиальном слое собственной пластинки слизистой оболочки десны в биоптате больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNF α* -308A; *IL-4* 3R/2R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, x630.

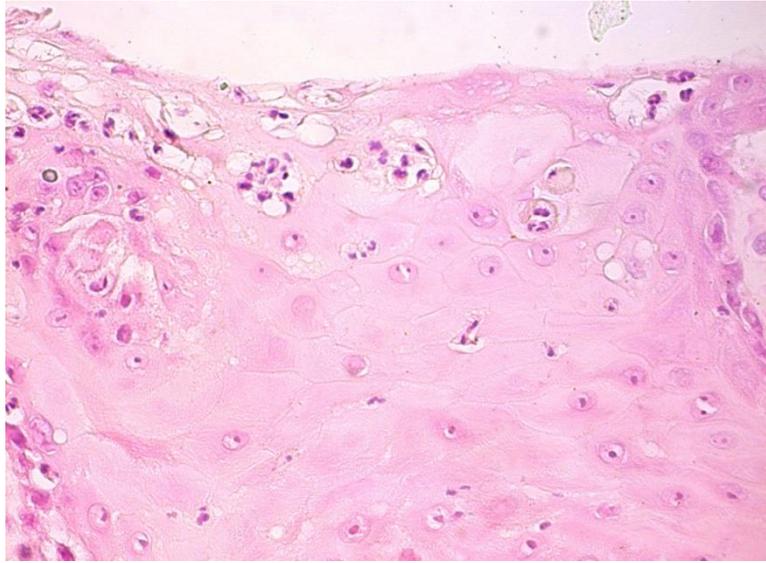


Рисунок 19 - Интраэпителиальные «микроабсцессы» в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNF α* -308A; *IL-4* 3R/3R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, \times 400.

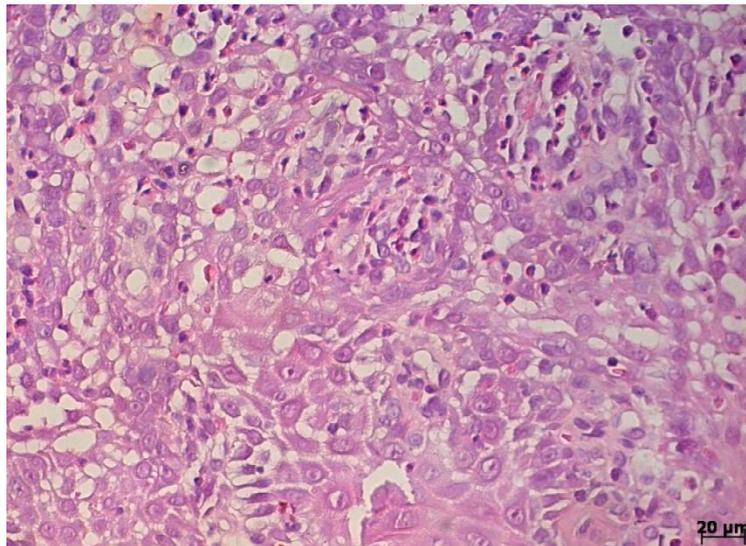


Рисунок 20 - Очаговая гидропическая дистрофия эпителиоцитов в местах интраэпителиальных скоплений нейтрофильных лейкоцитов в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNF α* -308G; *IL-4* 2R/3R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, \times 400.

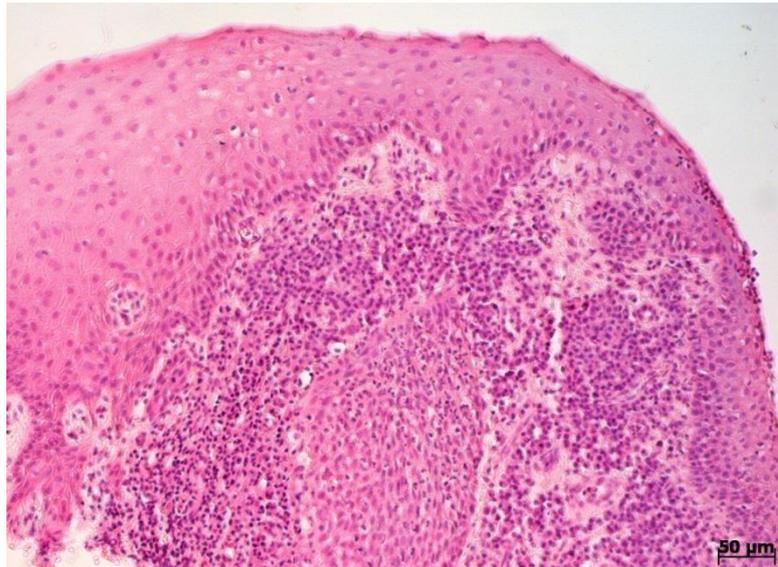


Рисунок 21 - Умеренная степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, x200.

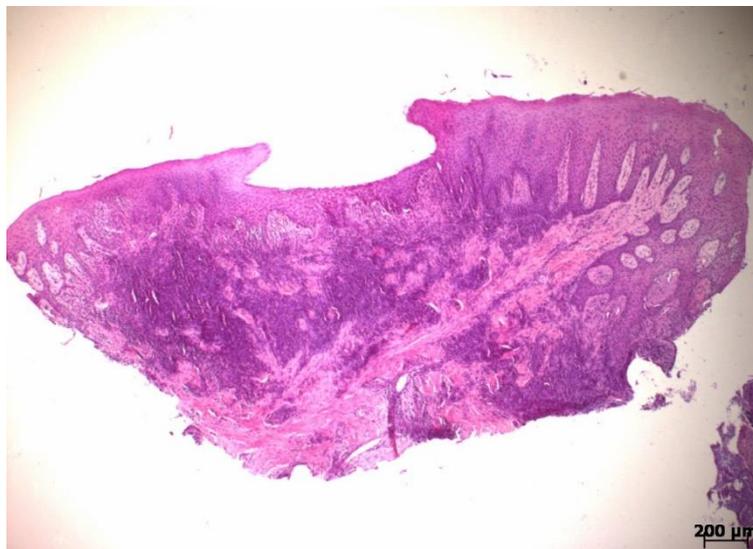


Рисунок 22 - Выраженная степень инфильтрации всех компартментов слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/3R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, x80.

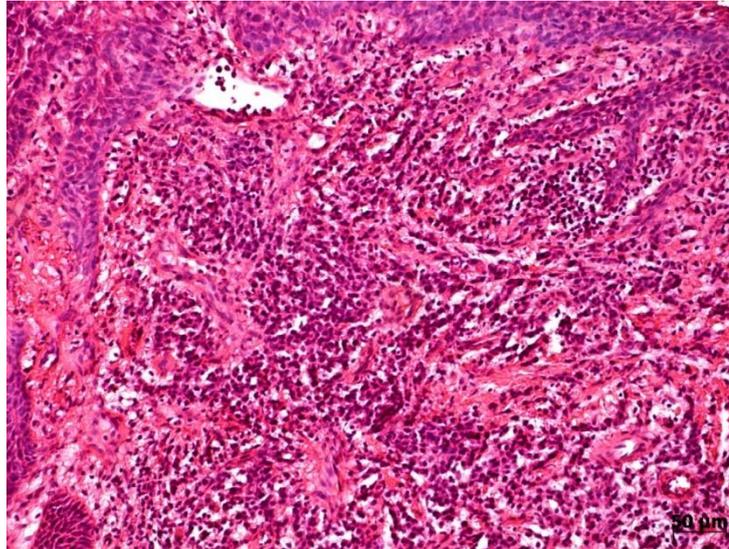


Рисунок 23 - Полиморфноклеточный воспалительный инфильтрат высокой плотности в биоптате слизистой оболочки десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/2R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином x100.

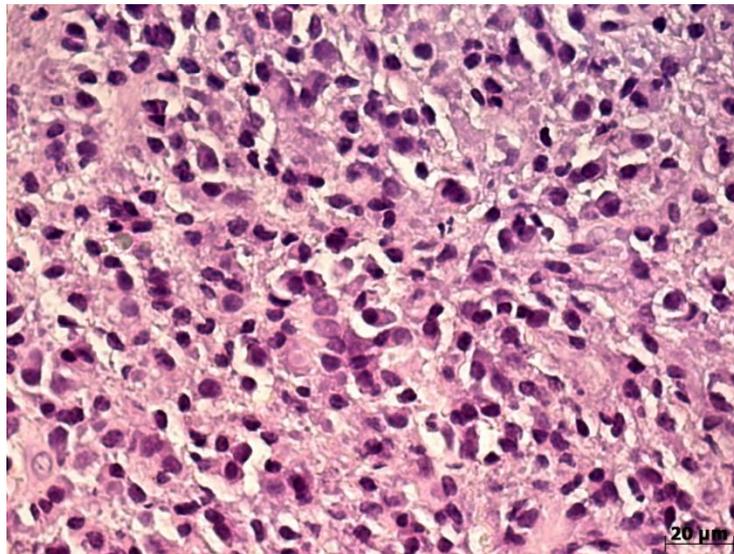


Рисунок 24 - Состав воспалительного инфильтрата высокой плотности в собственной пластинке слизистой оболочки десны: плазматические клетки, лимфоциты, макрофаги в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/2R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, x630.

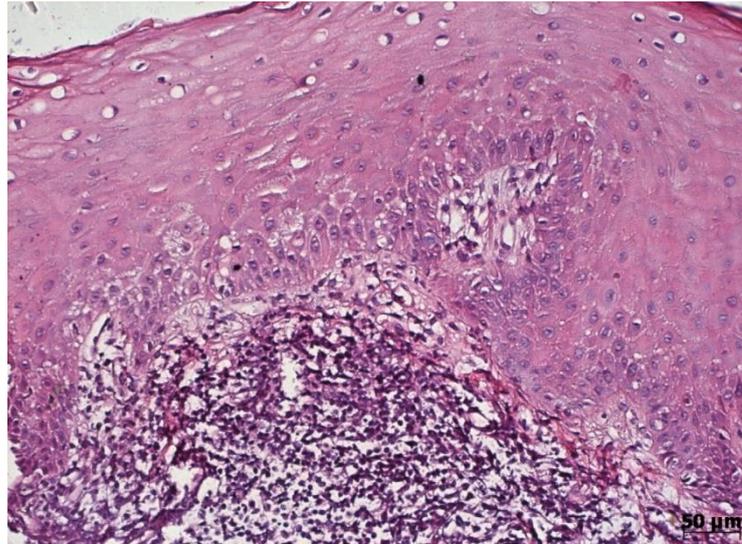


Рисунок 25 - Скопления лимфоцитов, подобные лимфоидным узелкам, в собственной пластинке слизистой оболочки десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNF α* -308A; *IL-4* 3R/3R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, x270.

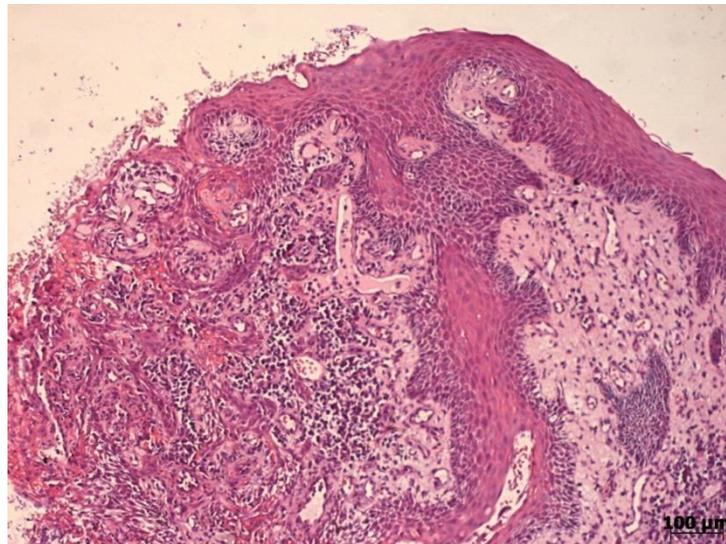


Рисунок 26 - Формирование грануляционной ткани с замещением эпителия в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNF α* -308A; *IL-4* 3R/2R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, x200.

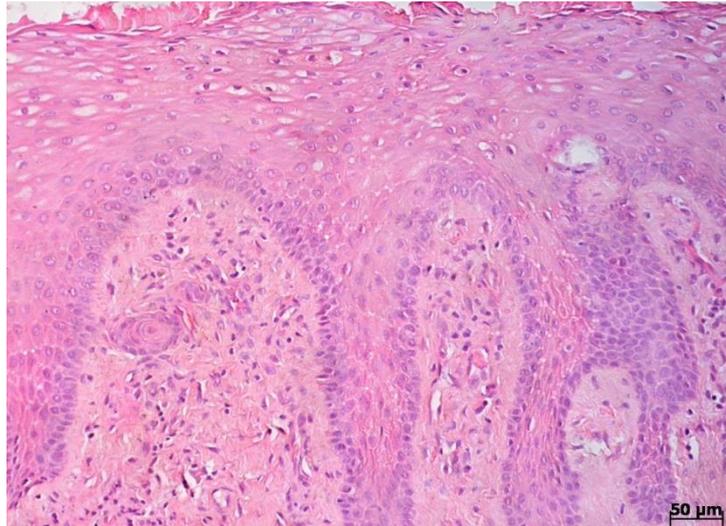


Рисунок 27 - Слабая степень инфильтрации мононуклеарными клетками в собственной пластинке слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, ×200

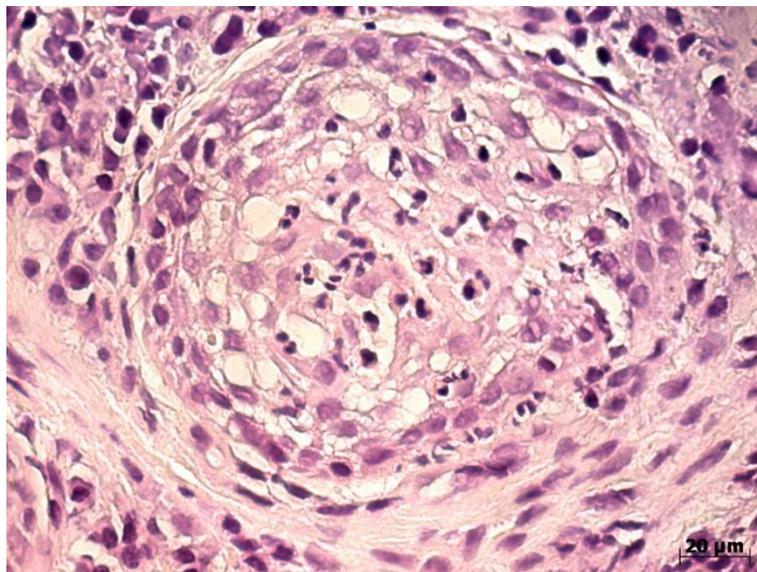


Рисунок 28 - Признаки экзоцитоза клеток воспалительного инфильтрата в эпителий в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/2R) до инициации базового курса терапии. Окраска гематоксилином и эозином, х630.

4.2 Иммунофенотип клеток воспалительного инфильтрата в биоптатах десны больных пародонтитом до инициации терапии

В биоптатах слизистой оболочки десны с признаками выраженной степени инфильтрации мононуклеарными клетками мы обнаруживали наибольшее количество лимфоцитов, имеющих на своей поверхности CD8 и CD4 рецепторы, а также CD20-позитивных лимфоцитов (таблица 45).

Субтипы Т-клеток распределялись в эпителиальном компартменте и собственной пластинке слизистой оболочки десны неоднородно: CD4-позитивные Т-клетки локализовались преимущественно в собственной пластинке слизистой оболочки десны. Они выявлялись в очагах скопления лимфоцитов особенно на границе эпителия и подлежащей ткани (рисунок 29). CD8 позитивные лимфоциты располагались как интраэпителиально, так и в собственной пластинке слизистой оболочки десны среди клеток воспалительного инфильтрата. При этом в участках выраженной деструкции эпителиального пласта наблюдалось снижение интенсивности инфильтрации CD8+ лимфоцитами (рисунок 30). На фоне диффузного распределения CD20 позитивных лимфоцитов в плотном мононуклеарном воспалительном инфильтрате определялись скопления CD20 позитивных клеток, напоминающие лимфоидные фолликулы (рисунок 31).

При иммунофенотипировании клеток воспалительного инфильтрата было проанализировано состояние популяции клеток системы мононуклеарных фагоцитов. Макрофаги воспалительного инфильтрата характеризовались экспрессией CD68 и обнаруживались в собственной пластинке слизистой оболочки десны. Метка к антителам CD68 выявлялась в виде слабо-коричневого мелкогранулярного окрашивания цитоплазмы крупных мононуклеарных клеток воспалительного инфильтрата (рисунок 32).

Т а б л и ц а 45 - Морфологическая, морфометрическая и иммуногистохимическая характеристика слизистой оболочки десны больных пародонтитом до инициации базового курса терапии

Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами					
Слабая		Умеренная		Выраженная	
Морфометрические показатели плотности нейтрофильных лейкоцитов (M±m) в 1 мм ² слизистой оболочки десны					
34±3		97±8*		135±11* [^]	
Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками					
Слабая		Умеренная		Выраженная	
Морфометрические показатели плотности мононуклеарных клеток (M±m) в 1 мм ² слизистой оболочки десны					
137±11		247±14*		321±13* [^]	
Иммуногистохимическое исследование субпопуляций лимфоцитов, мононуклеарных фагоцитов в 1 мм ² слизистой оболочки десны					
CD4+	52,36±7,22	83,74±8,16*	112,24±9,11* [^]		
CD8+	25,51±4,01	41,98±5,91*	52,01±6,12* [^]		
CD20+	26,43±4,13	44,25±6,51*	58,62±7,71* [^]		
CD45RO+	19,6±3,12	34,0±5,84*	52,31±6,21* [^]		
CD68+	29,12±3,64	41,28±4,77*	46,71±6,16*		
Ki67+ эпителиоциты					
28,65±3,4		30,27±4,2		30,42±4,3	
P53+ эпителиоциты					
27,01±4,8		27,26±6,1		28,71±5,2	

* - статистически значимые различия по сравнению с биоптатами десны со слабой степенью инфильтрации воспалительными клетками, [^]- статистически значимые различия по сравнению с биоптатами десны с умеренной степенью инфильтрации воспалительными клетками, p<0,05, при использовании критерия Крускала-Уоллиса.

CD45RO T лимфоциты локализовались в эпителиальном компартменте десны. При большом увеличении обнаруживалось достаточно большое количество интраэпителиальных лимфоцитов памяти (рисунок 33). В пределах собственной пластинки слизистой оболочки десны среди клеток воспалительного инфильтрата, ближе к границе эпителия, так же выявлялось большое количество CD45RO позитивных лимфоцитов (рисунок 34).

В биоптатах слизистой оболочки десны больных пародонтитом экспрессия Ki-67 выявлялась в эпителиальном компартменте и в клетках воспалительного инфильтрата, преимущественно в местах выраженной инфильтрации (рисунок 35).

В биоптатах слизистой оболочки десны с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками CD4 позитивные лимфоциты имели тенденцию к периваскулярной локализации (рисунок 36). Популяция CD8 позитивных лимфоцитов также выявлялась в обоих компартментах слизистой оболочки десны, отмечался экзоцитоз CD8-лимфоцитов в эпителиальный компартмент (рисунок 37). В собственной пластинке слизистой оболочки десны в участках максимальной выраженности воспалительного инфильтрата локализовались CD20+ лимфоциты (рисунок 38).

Среди клеток воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны диффузно располагались CD68 позитивные макрофаги (рисунок 39).

Отмечалось достаточное количество интраэпителиально расположенных клеток воспалительного инфильтрата, экспрессировавших CD45RO рецепторы (рисунок 40).

В собственной пластинке слизистой оболочки десны CD45RO T лимфоциты локализовались преимущественно в экстравазальном пространстве сосудов (рисунок 41).

Экспрессия метки Ki-67 определялась в эпителиальном компартменте и в клетках воспалительного инфильтрата в зонах более выраженной инфильтрации (рисунок 42).

В биоптатах десны с признаками слабой степени инфильтрации мононуклеарными клетками соответственно отмечалось наименьшее их количество. В собственной пластинке слизистой оболочки десны CD4+ лимфоциты были диффузно распределены в отдельных полях зрения, преимущественно, вокруг, сосудов, близко прилежащих к эпителию (рисунок 43).

Единичные CD8+ позитивные лимфоциты локализовались преимущественно в эпителии (рисунок 44). В зонах воспалительной инфильтрации обнаруживались CD20 позитивные лимфоциты.

Единичные CD68 позитивных клетки визуализировались, как правило, в периваскулярных пространствах в собственной пластинке слизистой оболочки десны.

T - лимфоциты памяти CD45RO+ локализовались в эпителии и периваскулярных пространствах собственной пластинке слизистой оболочки десны (рисунок 45).

Клетки с меткой Ki 67 выявлялись в зонах, где определялся инфильтрат (рисунок 46).

В основе усиления процессов пролиферации в многослойном плоском эпителии десны лежат процессы усиления темпов клеточного обновления, поддерживаемые ускорением деления клеток. Исследование уровня экспрессии маркеров пролиферации (Ki67) и ядерного маркера повреждения ДНК (P53) в слизистой оболочке десны выявило некоторые закономерности в распределении меченых клеток. В биоптатах слизистой оболочки десны нами обнаружена высокая экспрессия маркера пролиферации Ki-67 в клетках многослойного плоского эпителия как базального, так и супрабазального слоев, которая носила очаговый характер, с доминированием в акантотических тяжах (рисунок 47). Ядерная метка P53 визуализировалась преимущественно

в клетках пролиферативной зоны многослойного плоского эпителия (рисунок 48). Наличие достаточного количества эпителиоцитов с меткой P53 свидетельствует об интенсивном повреждении ДНК данных клеток в многослойном плоском эпителии десны у пациентов до начала лечения.

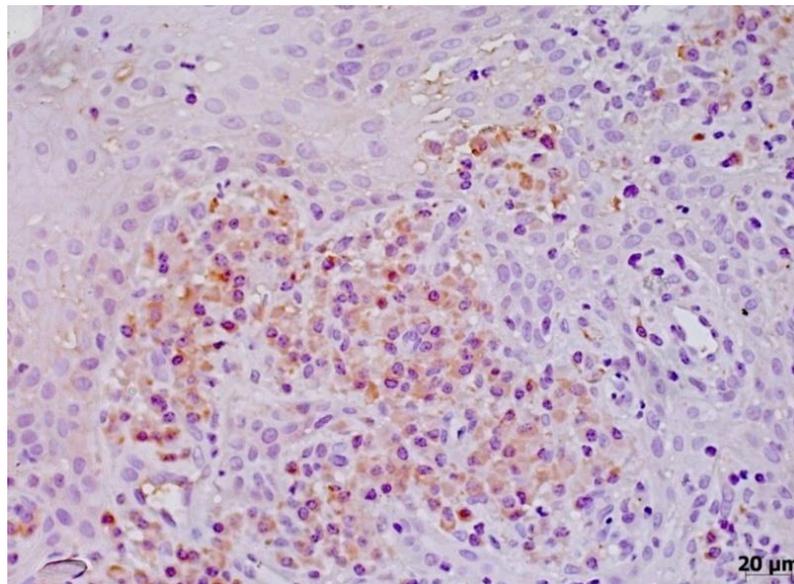


Рисунок 29 - CD4-позитивные лимфоциты в собственной пластинке слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNF α* -308A; *IL-4* 3R/3R) с признаками выраженной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x400.

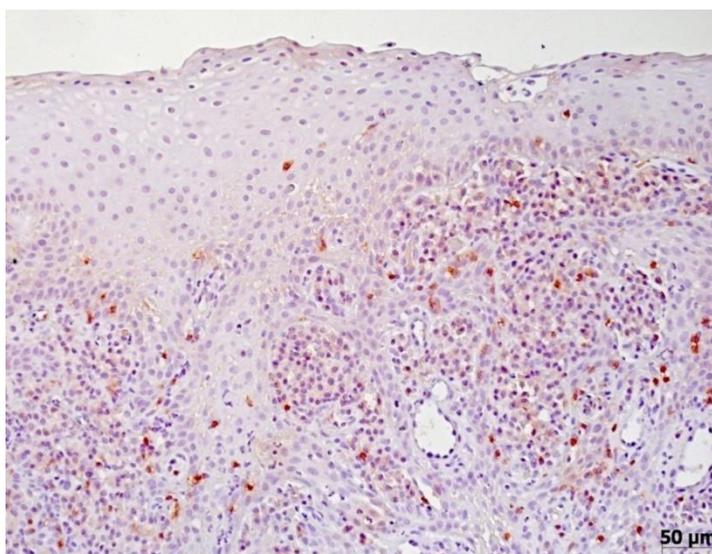


Рисунок 30 - CD8-лимфоциты в эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/3R) с признаками выраженной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x200.

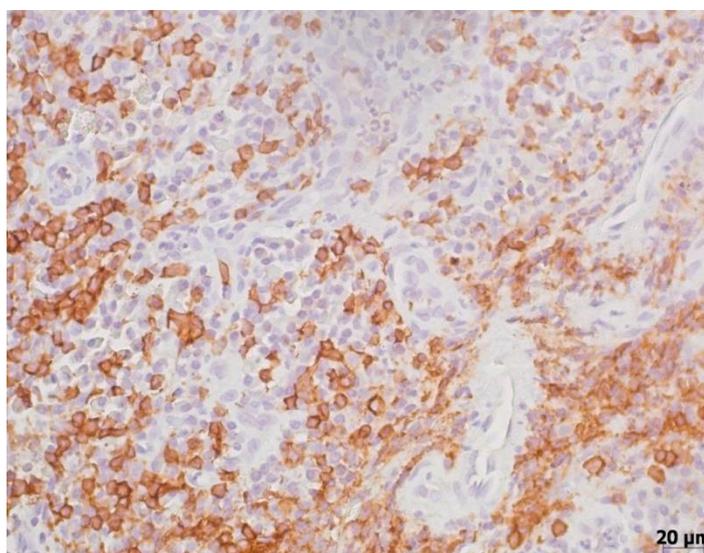


Рисунок 31 - Локализация CD20-лимфоцитов в собственной пластинке слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/3R) с признаками выраженной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x400

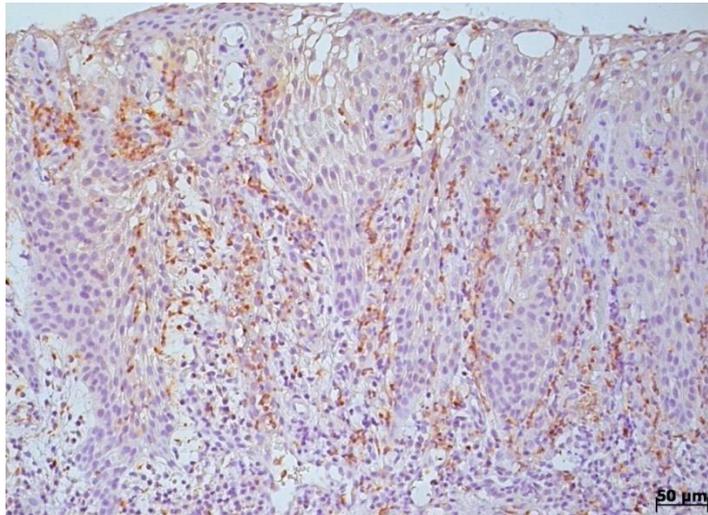


Рисунок 32 - CD68 позитивные клетки в собственной пластинке, в базальном слое эпителия и акантотических тяжах слизистой оболочки десны в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/2R) до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x200.

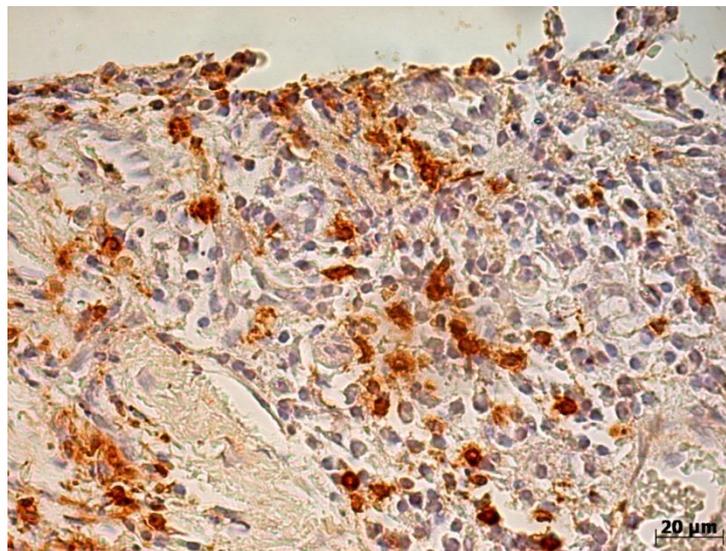


Рисунок 33 - Интраэпителиальное расположение CD45RO T- лимфоцитов в слизистой оболочке десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/3R) до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x630.

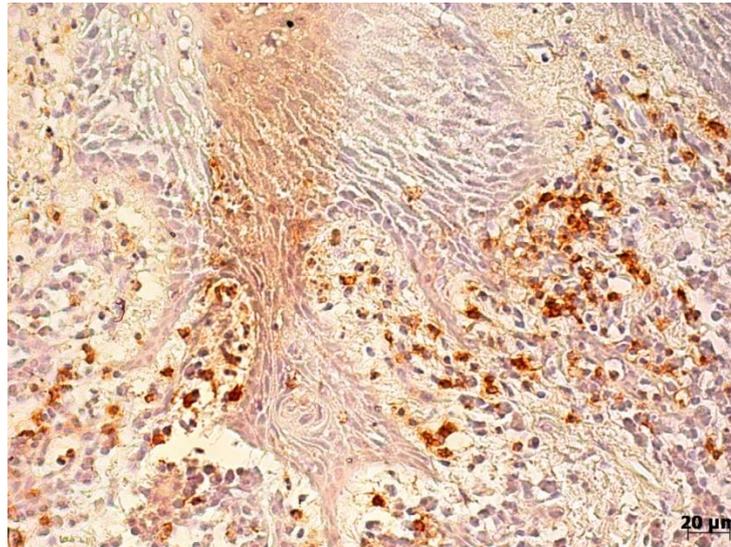


Рисунок 34 - Скопления CD45RO T- лимфоцитов преимущественно в собственной пластинке слизистой оболочки десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x400.

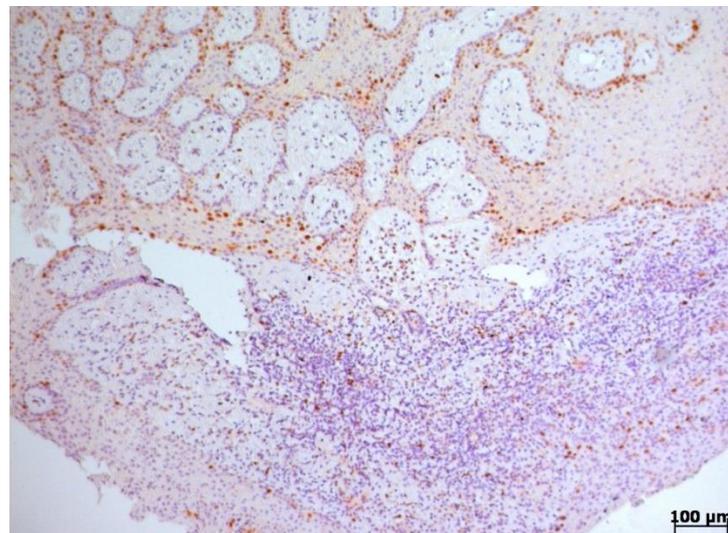


Рисунок 35 - Экспрессия Ki-67 в клетках воспалительного инфильтрата и в эпителиальном компартменте, «микропапилломатоз» слизистой оболочки десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/3R) до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x100.

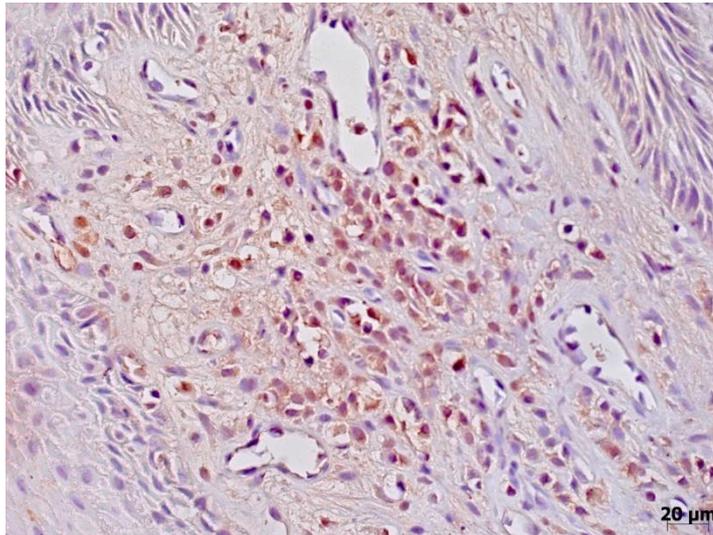


Рисунок 36 - CD4-лимфоциты в собственной пластинке слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNF α* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x400.

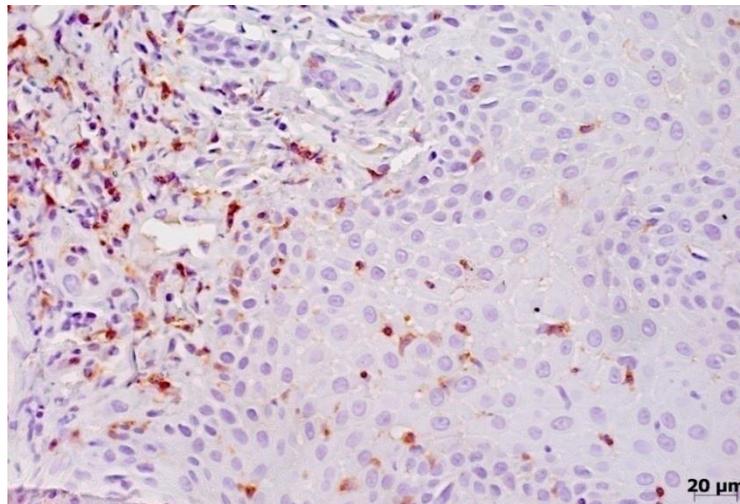


Рисунок 37 - CD8-лимфоциты воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1 β* -511T; *IL-1 β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNF α* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x400.

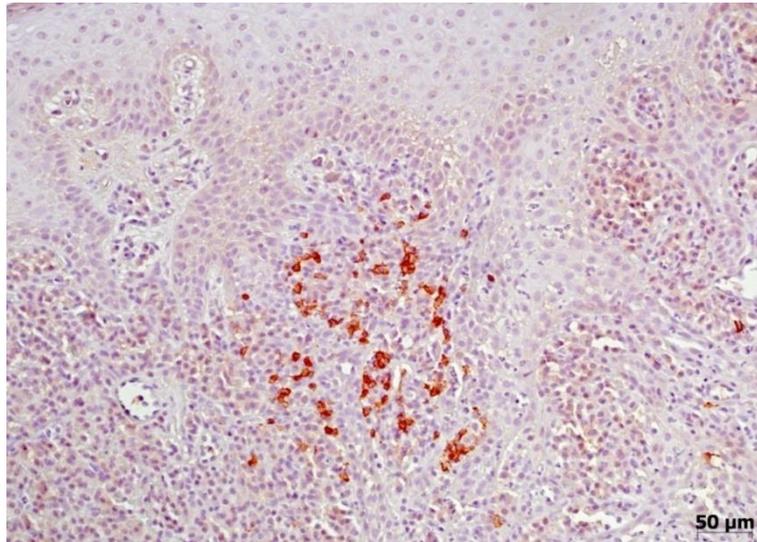


Рисунок 38 - CD20-лимфоциты в собственной пластинке слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x200

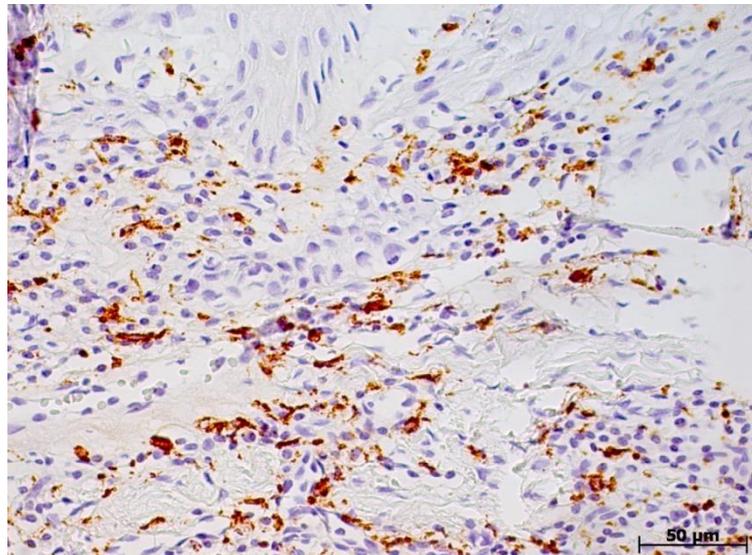


Рисунок 39 - CD68 позитивные макрофаги в собственной пластинке слизистой оболочки и интраэпителиально в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/2R) с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x200

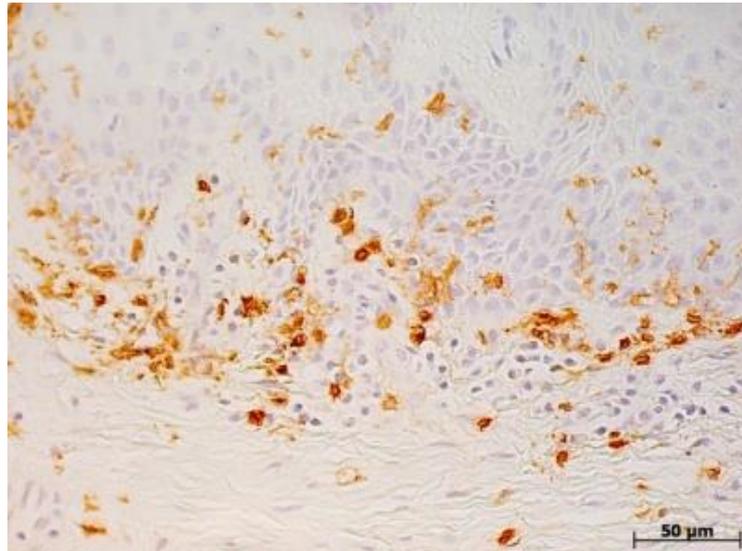


Рисунок 40 - CD45RO T- лимфоциты в эпителии слизистой оболочки десны в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/2R) с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, х400.

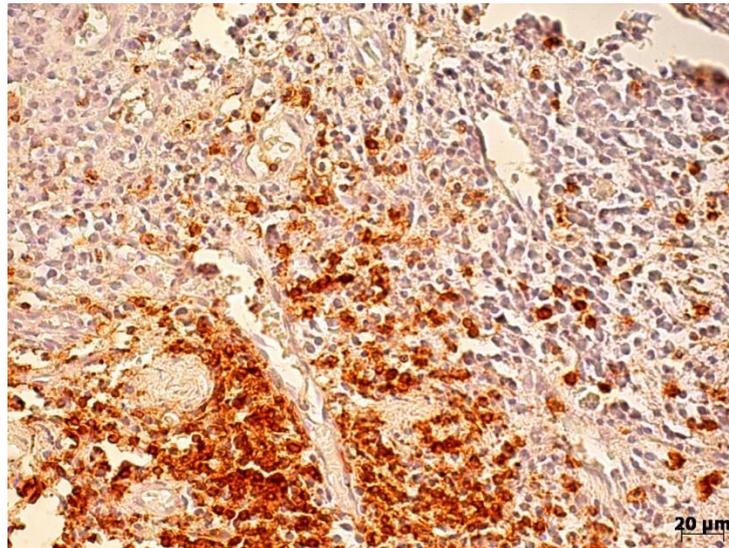


Рисунок 41 - CD45RO T- лимфоциты преимущественно в собственной пластинке слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, х400.

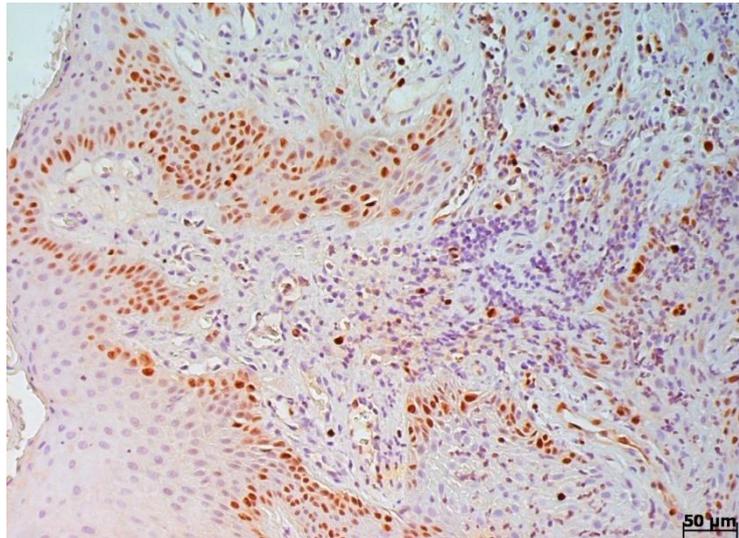


Рисунок 42 - Экспрессия Ki-67 в эпителиальном компартменте и в собственной пластинке слизистой оболочки в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/3R) с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, ×200.

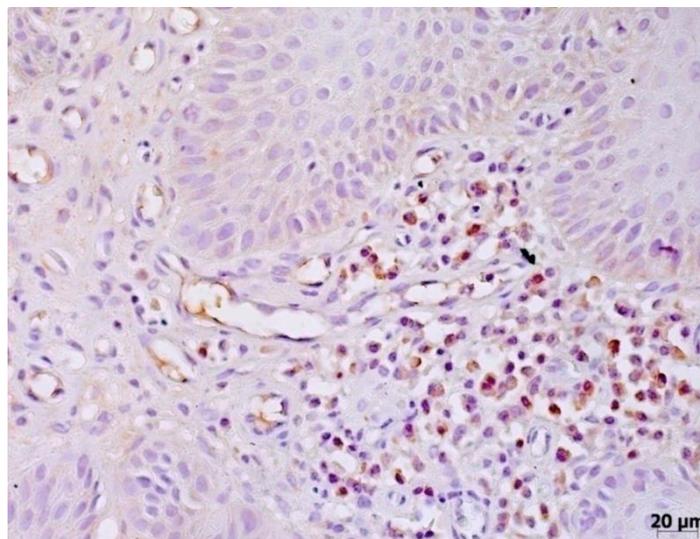


Рисунок 43 - CD4-лимфоциты в периваскулярных пространствах собственной пластинки слизистой оболочки десны в биоптатах десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками слабой степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, ×400.

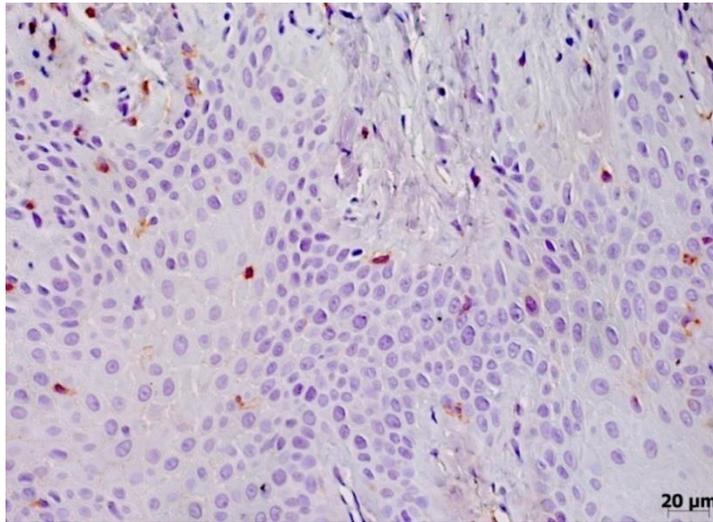


Рисунок 44 - Единичные CD8⁺ лимфоциты в эпителиальном компартменте слизистой оболочки десны в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками слабой степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, x400.

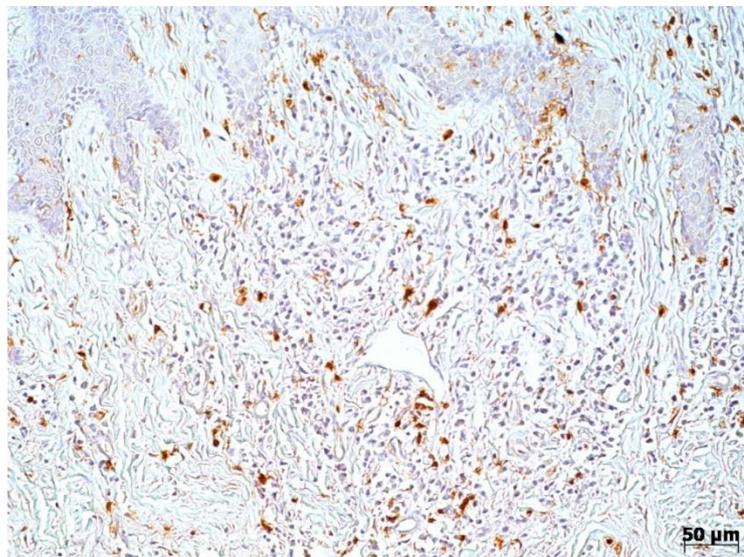


Рисунок 45 - Экспрессия CD45RO⁺ клетками воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны в биоптате десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками слабой степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, ×100

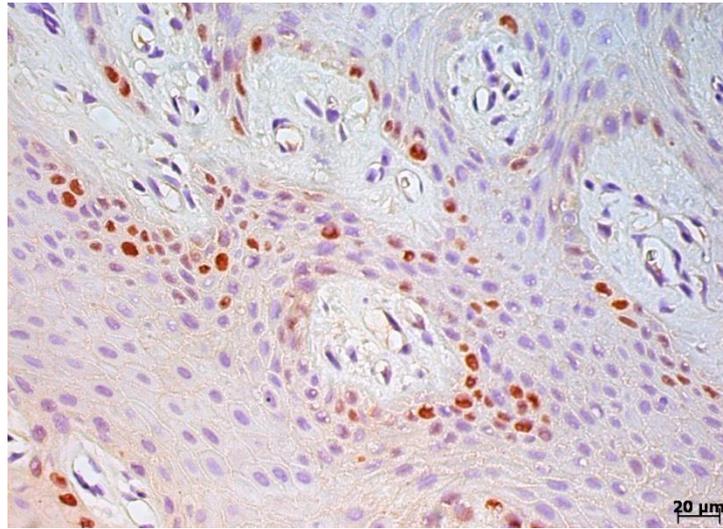


Рисунок 46 - Метка Кi 67 в эпителии слизистой оболочки десны в биоптате больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками слабой степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, ×200

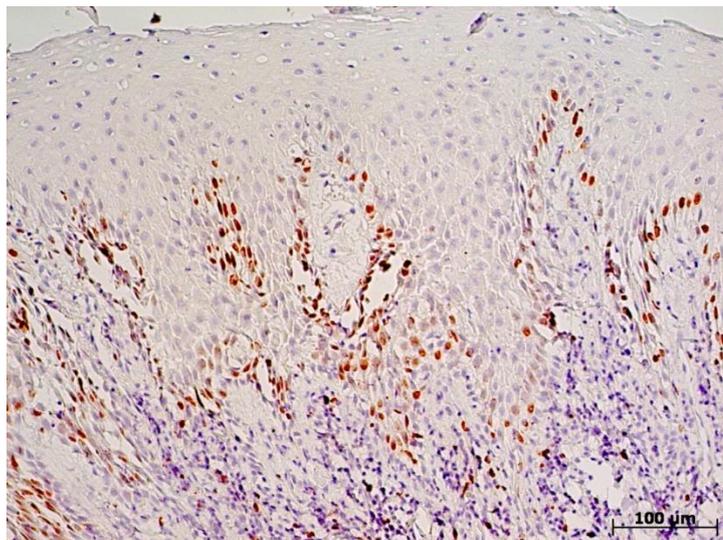


Рисунок 47 - Распределение Кi-67 позитивных эпителиоцитов в биоптате десны больного с «Агрессивным» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 2R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/3R) с признаками умеренной степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, ×100

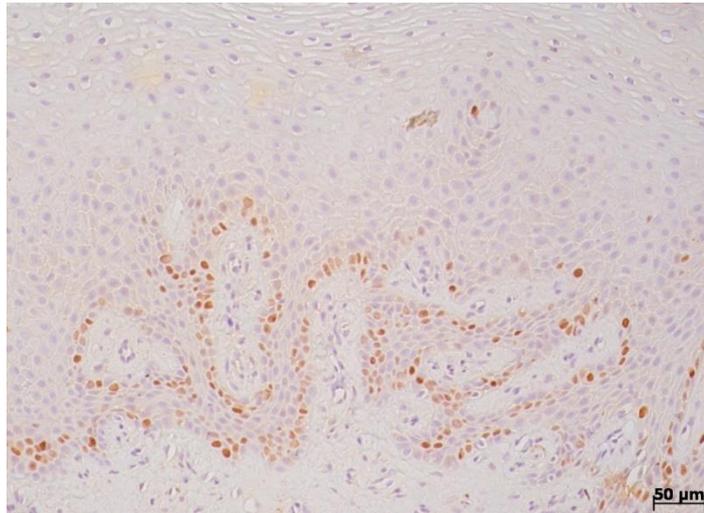


Рисунок 48 - P53 позитивные эпителиоциты базального слоя в биоптате слизистой оболочки десны больного с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953C; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308G; *IL-4* 2R/3R) с признаками слабой степени инфильтрации мононуклеарными клетками до инициации базового курса терапии. Иммуногистохимический метод, докраска ядер гематоксилином, ×200

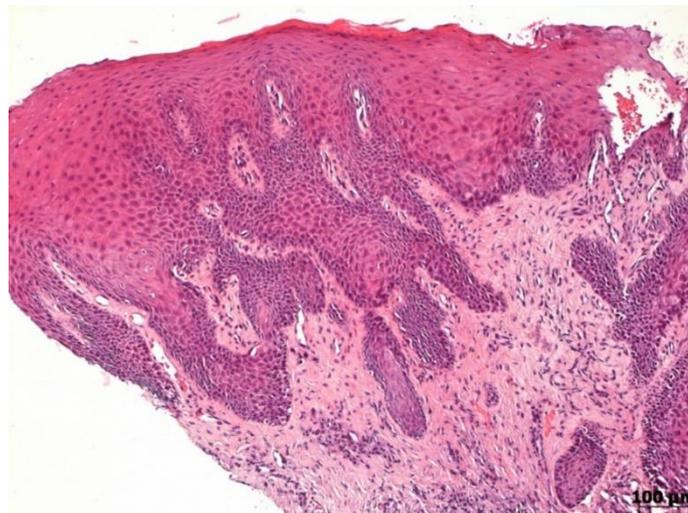


Рисунок 49 - Признаки сохраняющегося выраженного акантоза многослойного плоского эпителия и значительное снижение уровня инфильтрации мононуклеарными клетками собственной пластинки в биоптате десны больного с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита (генотип: *IL-1β* -511T; *IL-1β* +3953T; *IL-1RN* 4R; *TNFα* -308A; *IL-4* 3R/2R) через 1 месяц после начала базового лечения. Окраска гематоксилином и эозином, x100.

4.3 Изменения гистологической картины в биоптатах десны больных пародонтитом под влиянием базовой терапии.

Согласно дизайну исследования, повторное морфологическое исследование проводили через 14 дней после начала лечения, данный этап был направлен на удаление наддесневых и частично поддесневых зубных отложений и сопровождался активной антисептической обработкой пародонтальных карманов и полости рта.

При гистологическом исследовании слизистой оболочки десны, выполненном через 14 дней после начала базового лечения установлено, что в биоптатах у ряда пациентов морфологические изменения характеризовались уменьшением инфильтрации слизистой оболочке десны нейтрофильными лейкоцитами. При анализе структурных изменений в слизистой оболочке десны через 1 месяц от начала базового лечения у большого пациентов отмечено уменьшением инфильтрации слизистой оболочке десны нейтрофильными лейкоцитами, воспалительный инфильтрат собственной пластинки слизистой оболочке десны также подвергался редукции, состоял из мононуклеарных клеток, расположенных преимущественно в периваскулярных пространствах и интраэпителиально, в большинстве случаев, на фоне минимального количества, иногда - отсутствия нейтрофильных лейкоцитов. Признаки воспалительной реакции проявлялись явлениями отека в собственной пластинке слизистой оболочки десны, сохранением расширенных сосудов с признаками экстравазации мононуклеарных клеток. Эпителиальный компартмент десны характеризовался сохранением, у ряда пациентов - снижением степени выраженности акантоза и наличием признаков дистрофических изменений, преимущественно, в поверхностных слоях эпителиоцитов (рисунок 49). В части биоптатов редукции признаков воспаления не определялось, отмечено сохранение выраженной или умеренно выраженной степени инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками.

Дальнейшие лечебные манипуляции заключались в устранении ретенционных пунктов для фиксации зубной бляшки, контроле гигиенических навыков, что способствовало продолжению снижения бактериальной нагрузки в полости рта. Коррекция аномалий прикрепления уздечек губ, щечных тяжей, мелкого преддверия полости рта, временное и полупостоянное шинирование зубов, изготовление временных замещающих протезов способствовало нормализации кровоснабжения тканей, устраняло функциональные перегрузки тканей пародонта. Данный этап лечения для всех пациентов имел разную продолжительность, и занял около 2 месяцев.

После окончания базового курса терапии, общая продолжительность которого составила, в среднем, 3 месяца, морфологические изменения в слизистой оболочке десны у больных пародонтитом были так же неоднородны, как и до начала лечения. Структурные изменения слизистой оболочки десны в биоптатах десны 102 пациентов характеризовались уменьшения инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны полиморфно-ядерными лейкоцитами, нормализацией гистиоархитектоники десны, уменьшением степени акантоза, а также уменьшением степени мононуклеарной инфильтрации. Структурные изменения слизистой оболочки десны в биоптатах десны остальных 52 пациентов так же характеризовались уменьшением инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны полиморфно-ядерными лейкоцитами, сохранением умеренной степени акантоза, в ряде случаев – выраженной степени акантоза, но отличались сохранением умеренной, а в 9 биоптатах выраженной степени инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками.

У пациентов с разной степенью тяжести пародонтита по результатам морфологического исследования биоптатов слизистой оболочки десны до инициации лечения и после лечения - степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами не различалась (таблицы 46, 47).

Т а б л и ц а 46 - Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами в биоптатах больных пародонтитом разной степени тяжести до лечения (указано количество биоптатов)

Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами	Степень тяжести пародонтита					
	Легкая (n=27)		Средняя (n=66)		Тяжелая (n=61)	
	n	%	n	%	n	%
Выраженная	18	66,7	42	63,6	43	70,5
Умеренная	9	33,3	24	36,4	18	29,5
Слабая	0	0	0	0	0	0
$\chi^2= 0,614; \sqrt{df}=2; p=0,666$						

Отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 47 - Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами в биоптатах больных пародонтитом разной степени тяжести после лечения (указано количество биоптатов)

Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами	Степень тяжести пародонтита					
	Легкая (n=27)		Средняя (n=66)		Тяжелая (n=61)	
	n	%	n	%	n	%
Выраженная	0	0	0	0	0	0
Умеренная	4	14,8	14	21,2	20	32,8
Слабая	23	85,2	52	78,8	41	67,2
$\chi^2= 3,998; \sqrt{df}=2; p=0,135$						

Отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2).

При оценке степени инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками в биоптатах до инициации лечения слабая степень инфильтрации мононуклеарными клетками чаще определялась у больных с легким и средним пародонтитом, а выраженная степень инфильтрации – у больных с тяжелым пародонтитом. После лечения - степень инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками не различалась (таблицы 48, 49).

Т а б л и ц а 48 - Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками в биоптатах больных пародонтитом разной степени тяжести до лечения (указано количество биоптатов)

Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками	Степень тяжести пародонтита					
	Легкая (n=27)		Средняя (n=66)		Тяжелая (n=61)	
	n	%	n	%	n	%
Выраженная	9	33,3	25	37,9	30	49,1*
Умеренная	12	44,4	24	36,3	30	49,1
Слабая	6	22,3	17	25,8	1	1,8*
$\chi^2= 15,500; \sqrt{2}; p=0,004$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 49 - Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками в биоптатах больных пародонтитом разной степени тяжести после лечения (указано количество биоптатов)

Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками	Степень тяжести пародонтита					
	Легкая (n=27)		Средняя (n=66)		Тяжелая (n=61)	
	n	%	n	%	n	%
Выраженная	0	0	5	7,6	4	6,5
Умеренная	8	29,6	18	27,3	17	27,9
Слабая	19	70,4	43	65,1	40	65,6
$\chi^2= 7,802; \sqrt{v}=4; p=0,099$						

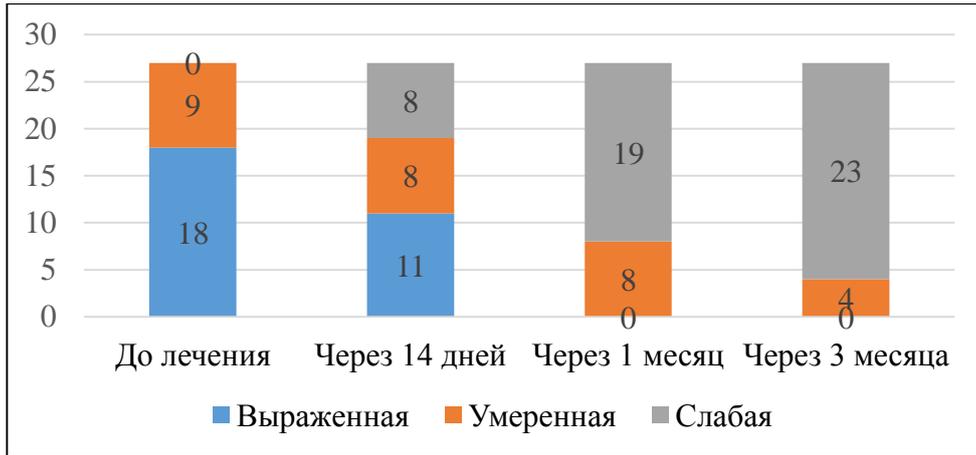
Отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2).

Снижение инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами в биоптатах у больных пародонтитом разной степени тяжести представлена на рисунках (рисунки 50 А, Б, В). Как видно из представленных данных, у больных пародонтитом разной степени тяжести под влиянием проводимого базового лечения происходило снижение инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами уже через 14 дней после инициации лечения. Через месяц после начала базового лечения количество биоптатов с признаками слабой степени инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами преобладало во всех группах больных. А к окончанию базового курса терапии признаки умеренной степени инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами сохранялись в небольшом количестве биоптатов, статистически значимых различий между группами больных не определялось ($\chi^2= 2,143; \sqrt{v}=6; p=0,709$).

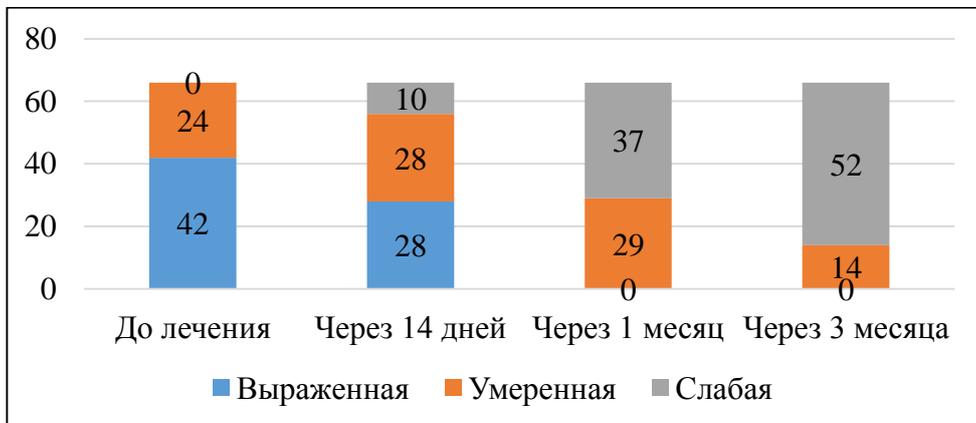
Характер снижения выраженности воспалительного мононуклеарного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны в биоптатах у больных с разной степенью тяжести пародонтита представлена на рисунках (рисунки 51 А, Б, В). Первые признаки редукции мононуклеарного клеточного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны определялись только через месяц после начала базового курса терапии.

При оценке темпов редукции воспалительного инфильтрата в биоптатах десны больных пародонтитом разной степени тяжести под влиянием базового курса лечения самое выраженное снижение степени инфильтрации мононуклеарными клетками слизистой оболочки десны отмечалось у пациентов с легким пародонтитом, сохранение выраженной степени инфильтрации мононуклеарными клетками слизистой оболочки десны по окончании базового курса лечения в данной группе больных зафиксировано в минимальном количестве биоптатов ($\chi^2 = 24,030$; $\sqrt{6}$; $p = 0,0001$).

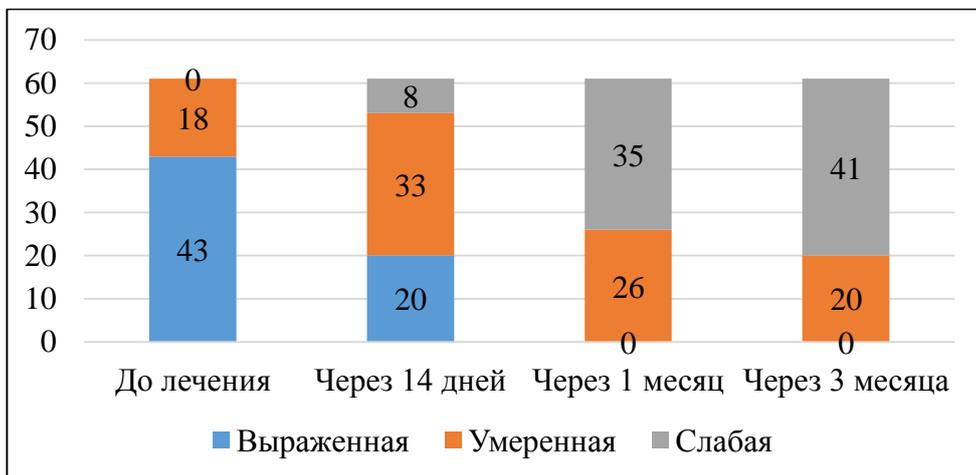
Регрессия признаков воспаления в слизистой оболочке десны была выражена у всех пациентов, у больных как с тяжелой, так и со средней и легкой степенью тяжести пародонтита были случаи сохранения воспалительного инфильтрата и случаи редукции воспалительного инфильтрата под влиянием базового курса терапии.



А – легкая степень пародонтита

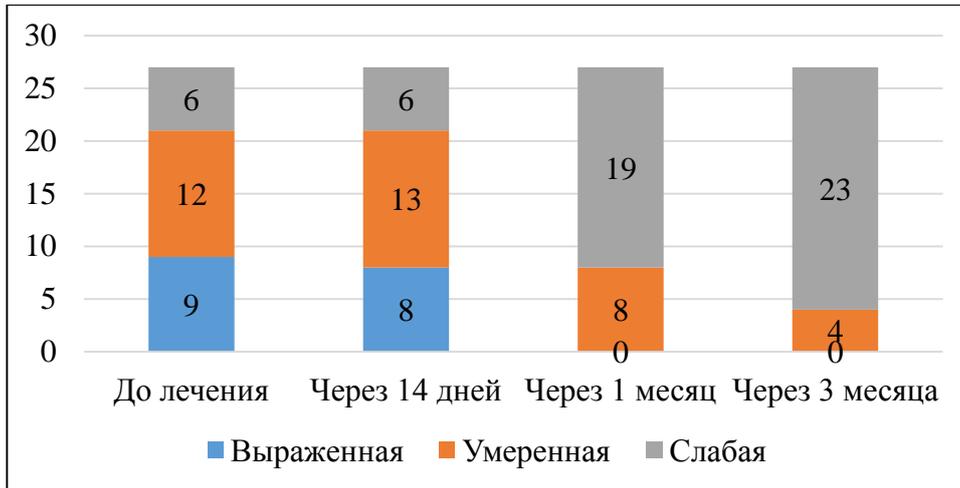


Б – средняя степень пародонтита

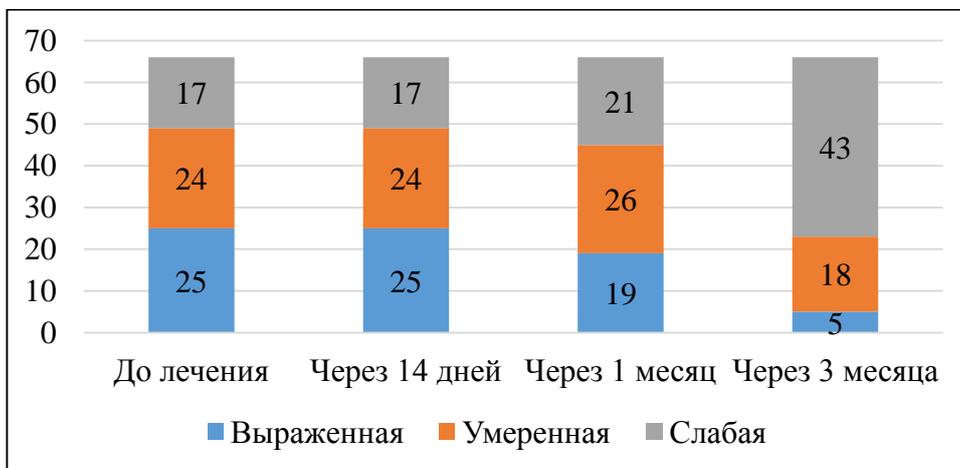


B – тяжелая степень пародонтита

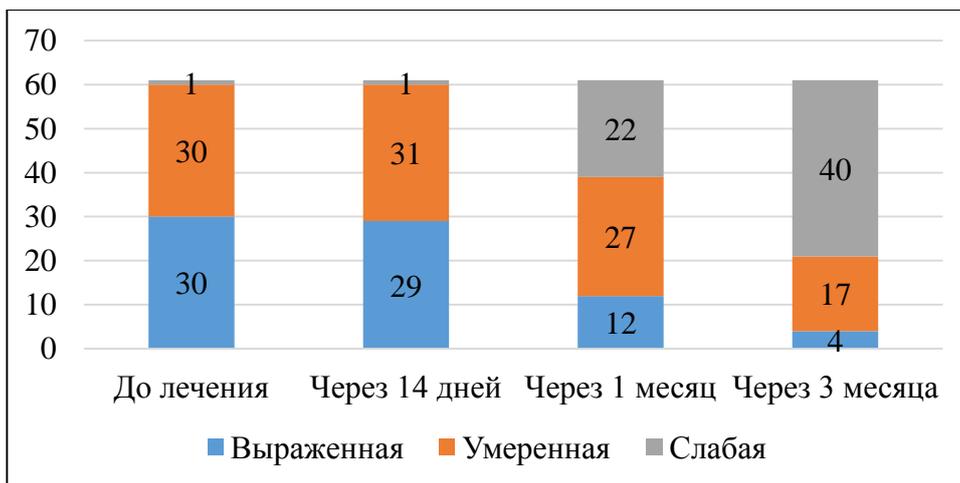
Рисунок 50 - Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами на этапах базовой терапии у больных с разной степенью тяжести пародонтита (указано количество биоптатов)



А – легкая степень пародонтита



Б – средняя степень пародонтита



В – тяжелая степень пародонтита

Рисунок 51 - Степень инфильтрации слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками на этапах базовой терапии у больных с разной степенью тяжести пародонтита (указано количество биоптатов)

4.4 Особенности динамики морфологических признаков воспаления под влиянием базового курса терапии в биоптатах слизистой оболочки десны больных с различным течением пародонтита

У пациентов с различным характером течения пародонтита по результатам морфологического исследования биоптатов слизистой оболочки десны до инициации лечения у пациентов с «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением пародонтита степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами была выше, чем у больных с «агрессивным» течением заболевания (таблица 50). А после лечения - степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами у лиц с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита была наименьшей, у лиц с «агрессивным» течением болезни оказалась выше, чем у больных с «умеренно прогрессирующим» течением (таблица 51).

Т а б л и ц а 50 - Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами в биоптатах больных с различным течением пародонтита до лечения (указано количество биоптатов)

Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами	Характер течения пародонтита					
	«Агрессивное» (n=50)		«Умеренно прогрессирующее» (n=50)		«Медленно прогрессирующее» (n=50)	
	n	%	n	%	n	%
Выраженная	28	56,0	38	76,0	17	34,0*
Умеренная	22	44,0	12	24,0	33	66,0*
Слабая	0	0	0	0	0	0
$\chi^2=17,857; \sqrt{2}; p=0,0001$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 51 - Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами в биоптатах больных с различным течением пародонтита после лечения (указано количество биоптатов)

Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами	Характер течения пародонтита					
	«Агрессивное» (n=50)		«Умеренно прогрессирующее» (n=50)		«Медленно прогрессирующее» (n=50)	
	n	%	n	%	n	%
Выраженная	0	0	0	0	0	0
Умеренная	18	36,0	12	24,0	6	12,0*
Слабая	32	64,0	38	76,0	44	88,0*
$\chi^2= 8,077; \sqrt{2}; p=0,018$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

При оценке степени инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками в биоптатах до инициации лечения слабая степень инфильтрации мононуклеарными клетками определялась чаще, а выраженная инфильтрация определялась реже у больных с «медленно прогрессирующим» течением болезни (таблица 52).

После лечения - степень инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками у лиц с «агрессивным» течением болезни сохранялась, а в биоптатах больных с «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» отмечалась редукция инфильтрата (таблица 53).

Т а б л и ц а 52 Степень инфильтрации слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками в биоптатах больных с различным течением пародонтита до лечения (указано количество биоптатов)

Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками	Характер течения пародонтита					
	«Агрессивное» (n=50)		«Умеренно прогрессирующее» (n=50)		«Медленно прогрессирующее» (n=50)	
	n	%	n	%	n	%
Выраженная	38	76,0	24	48,0	10	20,0*
Умеренная	12	24,0*	21	42,0	21	42,0
Слабая	0	0	5	10,0	19	38,0*
$\chi^2= 11,315; \sqrt{=4}; p=0,023$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 53 - Степень инфильтрации слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками в биоптатах больных с различным течением пародонтита после лечения (указано количество биоптатов)

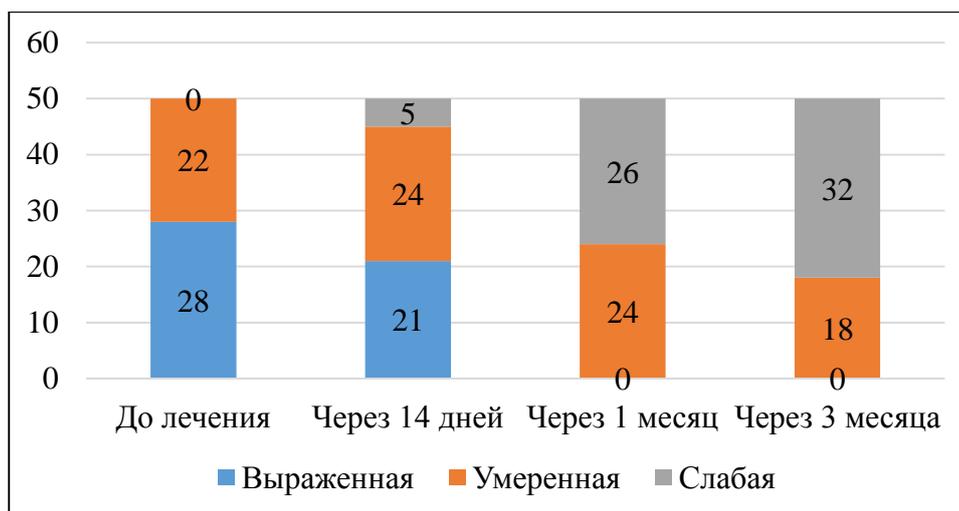
Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками	Характер течения пародонтита					
	«Агрессивное» (n=50)		«Умеренно прогрессирующее» (n=50)		«Медленно прогрессирующее» (n=50)	
	n	%	n	%	n	%
Выраженная	9	18,0*	0	0	0	0
Умеренная	41	82,0*	0	0	0	0
Слабая	0	0	50	100*	50	100*
$\chi^2= 150,802; \sqrt{=4}; p=0,0001$						

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

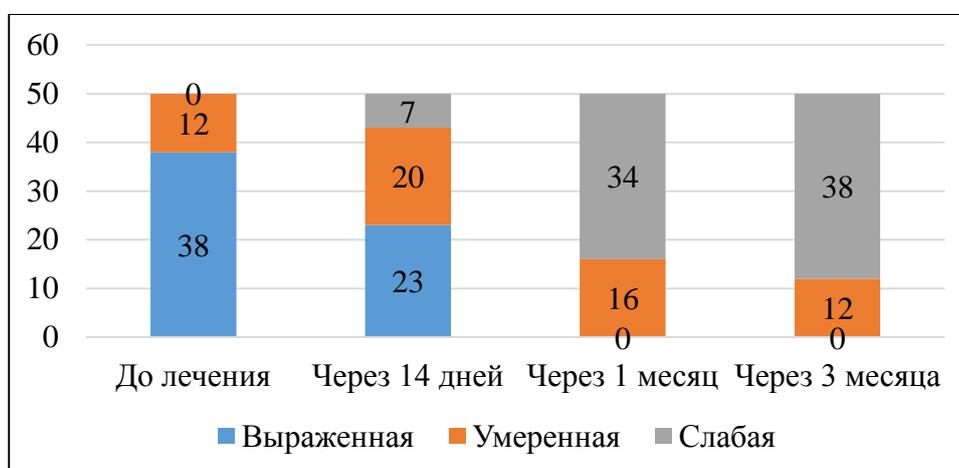
Динамика снижения инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами в биоптатах у больных с различным характером течения пародонтита представлена на рисунках (рисунки 52 А, Б, В).

Как видно из представленных данных, у больных пародонтитом под влиянием проводимого базового лечения зафиксировано снижение инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами через 14 дней после инициации лечения. Через месяц после начала базового лечения количество биоптатов с признаками слабой степени инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами преобладало во всех группах больных. А к окончанию базового курса терапии признаки умеренной степени инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами сохранялись в небольшом количестве биоптатов, при этом статистически значимых различий между группами больных с различным характером течения не определяется ($\chi^2=2,795$; $\sqrt{=4}$; $p=0,592$).

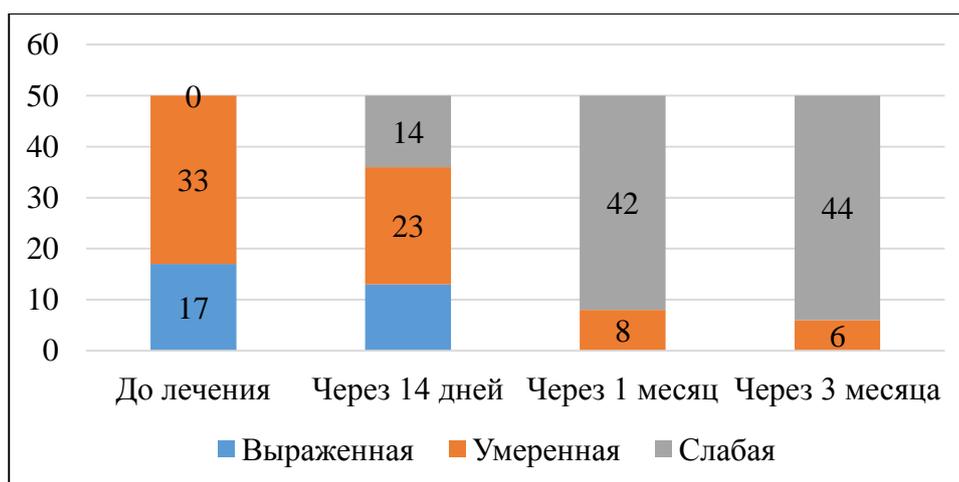
Динамика редукции воспалительного клеточного инфильтрата в слизистой оболочке десны в биоптатах у больных с различным характером течения пародонтита представлена на рисунках (рисунки 53 А, Б, В). Из этих данных видно, что самая выраженная редукция воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны под влиянием базовой терапии произошла у больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита, несколько медленнее снижалась выраженность мононуклеарного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны у лиц с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита и воспалительный инфильтрат сохранился у больных с «агрессивным» течением пародонтита, что имело статистическую значимость ($\chi^2=18,400$; $\sqrt{=6}$; $p=0,001$).



А – «агрессивное» течение

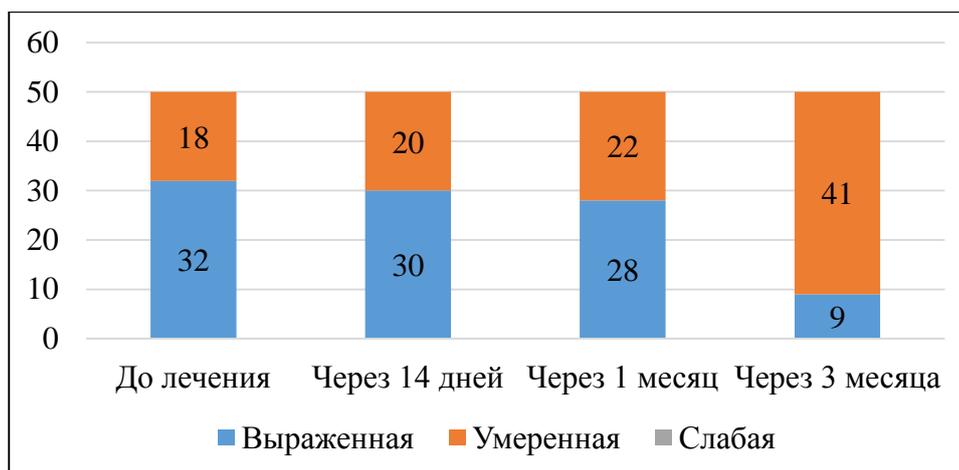


Б – «умеренно прогрессирующее» течение

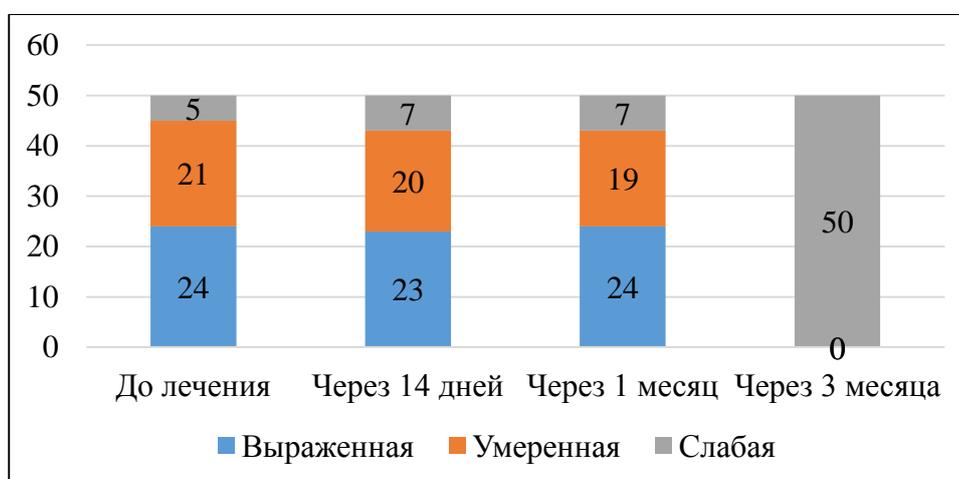


В – «медленно прогрессирующее» течение

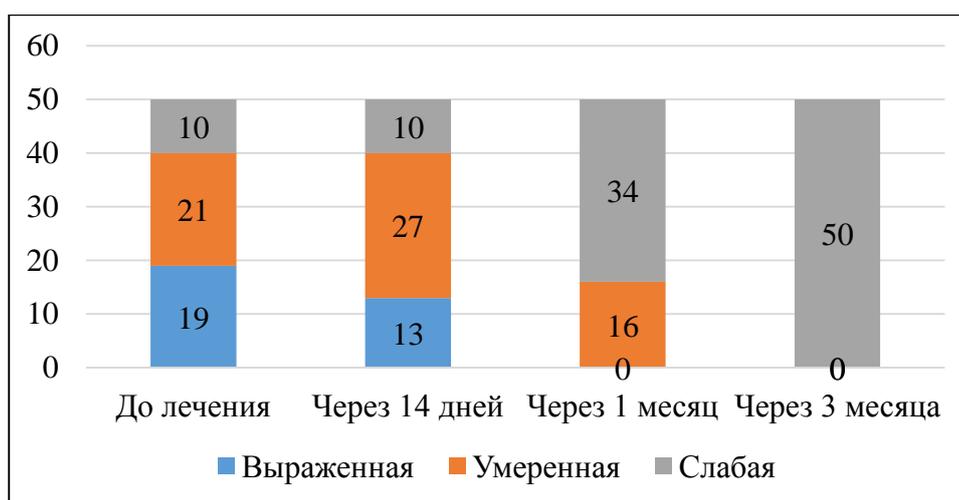
Рисунок 52 - Степень инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами на этапах базовой терапии у больных с различным течением пародонтита (указано количество биоптатов)



А – «агрессивное» течение



Б – «умеренно прогрессирующее» течение



В – «медленно прогрессирующее» течение

Рисунок 53 - Степень инфильтрации слизистой оболочки десны мононуклеарными клетками на этапах базовой терапии у больных с различным течением пародонтита (указано количество биоптатов)

4.5 Оценка иммуногистохимических маркеров и особенности их динамики в биоптатах десны больных с различным течением пародонтита под влиянием базового курса терапии

Показатели оценки иммуногистохимических маркеров в биоптатах десны больных с различным течением пародонтита на этапах базового лечения представлены в таблицах (таблицы 54, 55, 56, 57). До инициации базового лечения в биоптатах больных пародонтитом с «медленно прогрессирующим» течением отмечалось статистически значимо меньшее количество CD4+ и CD8+ позитивных лимфоцитов, уже через 14 дней после начала лечения в биоптатах данной группы больных зафиксировано статистически значимое снижение CD4+, CD8+, CD20+ и CD45RO+ позитивных лимфоцитов по сравнению с пациентами, течение пародонтита у которых характеризовалось как «агрессивное». Спустя 1 месяц после инициации базового курса терапии в биоптатах больных пародонтитом с «медленно прогрессирующим» течением отмечалось статистически значимо меньшее количество всех изучаемых клеток, включая моноклеарные фагоциты CD68+ и клетки с меткой Ki67+. Интересно отметить, что к окончанию базовой терапии в биоптатах пациентов с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита было статистически значимо меньшее количество клеток, по сравнению с больными с «агрессивным» течением пародонтита и не отличалось от показателей пациентов, имевших «медленно прогрессирующее» течение болезни. В биоптатах больных с «агрессивным» течением пародонтита воспалительный инфильтрат сохранялся в собственной пластинке слизистой оболочки десны, где был представлен остаточными популяциями CD68+ макрофагов, CD45RO+ Т лимфоцитов памяти, персистирующих в собственной пластинке слизистой оболочки десны и популяциями CD8+ и CD45RO+ Т лимфоцитов в эпителиальном компартменте слизистой оболочки десны.

Т а б л и ц а 54 - Морфометрические показатели оценки иммуногистохимических маркеров в биоптатах десны больных с разным течением пародонтита до лечения ($M \pm \sigma$)

Течение пародонтита / Показатель (в 1мм ² среза)	«Агрессивное» (n=50)	«Умеренно прогрессирующее» (n=50)	«Медленно прогрессирующее» (n=50)
CD 4+ лимфоциты	111,29±10,24	104,98±9,88	89,61±9,11*^
CD 8+ лимфоциты	53,47±10,44	48,79±10,58	42,45±10,23*^
CD 20+ лимфоцитов	54,84±10,26	52,45±10,28	48,22±9,14
CD 68+ клетки воспалительного инфильтрата	46,62±10,16	44,76±8,22	43,16±8,61
CD 45RO+ клетки воспалительного инфильтрата	47,27±4,42	42,72±3,88	40,34±4,29
Ki 67+ клетки воспалительного инфильтрата	13,48±4,11	11,60±3,94	10,17±2,65

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении с группой «агрессивное» течение; ^ - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении с группой «умеренно прогрессирующее» течение; при сравнении между группами проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова для независимых выборок.

Т а б л и ц а 55 - Морфометрические показатели оценки иммуногистохимических маркеров в биоптатах десны больных с разным течением пародонтита через 14 дней после начала лечения ($M \pm \sigma$)

Течение пародонтита / Показатель (в 1 мм ² среза)	«Агрессивно» (n=50)	«Умеренно прогрессирующее» (n=50)	«Медленно прогрессирующее» (n=50)
CD 4+ лимфоциты	108,19±10,44	105,39±9,23	90,87±10,57*
CD 8+ лимфоциты	50,47±10,71	48,79±11,32	41,86±10,28*
CD 20+ лимфоцитов	54,84±10,46	53,45±9,88	46,84±9,54*
CD 68+ клетки воспалительного инфильтрата	44,62±9,65	44,76±9,32	42,64±8,51
CD 45RO+ клетки воспалительного инфильтрата	45,27±4,66	45,72±4,08	38,58±4,36*
Ki 67+ клетки воспалительного инфильтрата	11,48±4,40	11,60±4,24	9,70±4,08

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении с группой «агрессивное» течение; ^ - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении с группой «умеренно прогрессирующее» течение; при сравнении между группами проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова для независимых выборок.

Т а б л и ц а 56 - Морфометрические показатели оценки иммуногистохимических маркеров в биоптатах десны больных с разным течением пародонтита через 1 месяц после начала лечения ($M \pm \sigma$)

Течение пародонтита / Показатель (в 1 мм ² среза)	«Агрессивное» (n=50)	«Умеренно прогрессирующее» (n=50)	«Медленно прогрессирующее» (n=50)
CD 4+ лимфоциты	100,73±10,17	94,00±10,72	55,09±10,86*^
CD 8+ лимфоциты	47,95±10,84	45,58±10,05	30,58±10,21*^
CD 20+ лимфоцитов	52,94±10,76	47,50±10,82	31,54±9,92*^
CD 68+ клетки воспалительного инфильтрата	44,58±10,10	43,16±9,02	32,69±8,64*^
CD 45RO+ клетки воспалительного инфильтрата	44,73±4,97	40,48±4,23	24,31±3,81*^
Ki 67+ клетки воспалительного инфильтрата	11,40±3,71	11,24±4,04	9,72±4,31*^

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении с группой «агрессивное» течение; ^ - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении с группой «умеренно прогрессирующее» течение; при сравнении между группами проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова для независимых выборок.

Т а б л и ц а 57 - Морфометрические показатели оценки иммуногистохимических маркеров в биоптатах десны больных с разным течением пародонтита через 3 месяца после начала лечения ($M \pm \sigma$)

Течение пародонтита / Показатель (в 1мм ² среза)	«Агрессивное» (n=50)	«Умеренно прогрессирующее» (n=50)	«Медленно прогрессирующее» (n=50)
CD 4+ лимфоциты	88,67±11,54	46,58±9,03*	40,92±9,83*
CD 8+ лимфоциты	43,72±10,27	25,10±10,95*	20,18±10,46*
CD 20+ лимфоцитов	46,59±10,52	25,73±9,97*	24,16±9,68*
CD 68+ клетки воспалительного инфильтрата	42,10±10,04	30,21±9,42*	26,62±8,96*
CD 45RO+ клетки воспалительного инфильтрата	37,11±4,28	21,24±4,12*	18,81±3,87*
Ki 67+ клетки воспалительного инфильтрата	8,86±2,54	4,62±2,41*	4,48±2,24*

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении с группой «агрессивное» течение; ^ - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении с группой «умеренно прогрессирующее» течение; при сравнении между группами проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова для независимых выборок.

При анализе изменения количества каждого изучаемого маркера под влиянием базовой терапии в биоптатах слизистой оболочки десны у больных с различным течением пародонтита было установлено, что в группе с «агрессивным» течением болезни статистически значимое уменьшение клеток воспалительного инфильтрата произошло только через 3 месяца (к окончанию базового курса) за счет CD4+ и CD20+ лимфоцитов, остальные популяции клеток сохранились в слизистой оболочке десны (таблица 58).

Т а б л и ц а 58 - Изменения морфометрических показателей оценки иммуногистохимических маркеров в биоптатах десны больных с «Агрессивным» течением пародонтита под влиянием базовой терапии

Изучаемые показатели	Период, за который оценивалось изменение изучаемого показателя					
	до лечения / через 14 дней		через 14 дней / через 1 месяц		через 1 месяц / через 3 месяца	
	U	p	U	p	U	p
CD4+ лимфоциты	1,263	0,207	1,263	0,207	3,100	0,002*
CD8+ лимфоциты	0,000	1,000	1,193	0,233	1,650	0,099
CD20+ лимфоциты	0,244	0,807	1,732	0,082	2,032	0,042*
CD68+ клетки воспалительного инфильтрата	0,084	0,833	1,026	0,305	0,073	0,850
CD45RO лимфоциты	0,127	0,889	1,352	0,176	1,780	0,075
Ki67+ клетки воспалительного инфильтрата	0,063	0,950	0,082	0,731	1,684	0,092

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$; проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия U (Манна - Уитни)

У пациентов с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита через месяц после начала лечения происходило статистически значимое уменьшение популяции CD4+ и CD45RO+ Т лимфоцитов и клеток с меткой Ki67+ в компартментах слизистой оболочки десны, а за последующие 2 месяца к окончанию базового лечения отмечалось статистически значимое уменьшение популяции всех изучаемых иммуноморфологических маркеров (таблица 59). При этом в собственной пластинке слизистой оболочки десны оставались популяции антигенпрезентирующих клеток - CD68+ макрофагов и CD45RO+ Т лимфоцитов.

Т а б л и ц а 59 - Изменения морфометрических показателей оценки иммуногистохимических маркеров в биоптатах десны больных с «Умеренно прогрессирующим» течением пародонтита под влиянием базовой терапии

Изучаемые показатели	Период, за который оценивалось изменение изучаемого показателя					
	до лечения / через 14 дней		через 14 дней / через 1 месяц		через 1 месяц / через 3 месяца	
	U	p	U	p	U	p
CD4+ лимфоциты	1,311	0,702	4,147	0,000*	6,741	0,000*
CD8+ лимфоциты	0,076	0,677	1,480	0,139	3,690	0,000*
CD20+ лимфоциты	0,322	0,663	1,548	0,095	3,128	0,002*
CD68+ клетки воспалительного инфильтрата	0,254	0,873	0,411	0,403	2,981	0,008*
CD45RO лимфоциты	0,146	0,850	4,249	0,000*	4,066	0,000*
Ki67+ клетки воспалительного инфильтрата	1,361	0,174	2,155	0,031*	3,821	0,000*

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$; проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия U (Манна - Уитни)

Для пациентов с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита было характерно снижение популяции CD4+ и CD45RO+ Т лимфоцитов через две недели после начала лечения, а через месяц после начала лечения и к окончанию курса базовой терапии статистически значимо уменьшились популяции всех изучаемых иммуноморфологических маркеров в биоптатах десны (таблица 60). Для данной группы больных отмечалась самая позитивная динамика показателей оценки иммуноморфологических маркеров в биоптатах десны под влиянием проводимого курса терапии.

Т а б л и ц а 60 - Изменения морфометрических показателей оценки иммуногистохимических маркеров в биоптатах десны больных с «Медленно прогрессирующим» течением пародонтита под влиянием базовой терапии

Изучаемые показатели	Период, за который оценивалось изменение изучаемого показателя					
	до лечения / через 14 дней		через 14 дней / через 1 месяц		через 1 месяц / через 3 месяца	
	U	p	U	p	U	p
CD4+ лимфоциты	2,049	0,032*	4,029	0,000*	3,803	0,000*
CD8+ лимфоциты	0,532	0,595	2,805	0,005*	3,236	0,001*
CD20+ лимфоциты	1,465	0,143	3,099	0,002*	2,891	0,004*
CD68+ клетки воспалительного инфильтрата	0,493	0,622	2,916	0,004*	2,276	0,023*
CD45RO лимфоциты	2,052	0,040*	3,779	0,000*	3,660	0,000*
Ki67+ клетки воспалительного инфильтрата	0,971	0,322	1,309	0,190	3,777	0,000*

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$; проверка статистических гипотез проводилась с использованием парного критерия U (Манна - Уитни)

4.6 Морфометрические показатели обновления клеточной популяции в эпителии слизистой оболочки десны под влиянием базового курса терапии у лиц с различным течением пародонтита

Морфометрические показатели обновления клеточной популяции в эпителии слизистой оболочки десны под влиянием базового лечения у лиц с различным течением пародонтита изменялись так же неодинаково. В группах пациентов с «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением болезни статистически значимое снижение объемной доли эпителиальных тяжей отмечалось к окончанию лечения ($N=17,695$; $df=2$; $p=0,000$).

Распределение метки Ki-67 в слизистой оболочке десны после курса терапии у данных пациентов ограничивалось преимущественно базальным слоем эпителиоцитов, с наличием единичных позитивно-окрашенных клеток в шиповатом слое.

У пациентов с «агрессивным» течением пародонтита в биоптатах слизистой оболочки десны к концу лечения метка Ki67 (маркер пролиферации) определялась в клетках многослойного плоского эпителия как базального, так и супрабазального слоев слизистой оболочки десны, носила очаговый характер, с доминированием в акантотических тяжах, как и до терапии.

Ядерная метка P53 визуализировалась также в клетках пролиферативной зоны многослойного плоского эпителия в виде слабо коричневого прокрашивания ядер клеток базального и супрабазального слоев. Количество меченых эпителиоцитов уменьшалось к окончанию базового курса лечения, но разница не достигала статистической значимости (таблица 61).

Т а б л и ц а 61 - Морфометрические показатели обновления клеточной популяции в эпителиальном компартменте десны у пациентов с различным течением пародонтита под влиянием базового курса терапии ($M \pm \sigma$)

Течение пародонтита		Изучаемый показатель (в 1 мм ² среза)	Объемная плотность эпителиальных	Количество Ki-67+ эпителиоцитов	Количество P53+ эпителиоцитов
«Агрессивное»	До лечения		0,72±0,07	30,42±4,3	27,26±6,1
	После лечения		0,69±0,06	29,31±3,7	26,09±5,7
«Умеренно прогрессирующее»	До лечения		0,74±0,06	30,97±4,2	28,71±5,2
	После лечения		0,59±0,09*	22,27±5,1*	23,19±4,3*
«Медленно прогрессирующее»	До лечения		0,71±0,08	30,65±3,4	28,01±4,8
	После лечения		0,52±0,06*	19,40±3,7*	21,67±5,1*

* различия между группами статистически значимы $p < 0,05$ - при использовании критерия Крускала-Уоллиса.

При этом клеточный инфильтрат из иммунокомпетентных клеток, который сохраняется в собственной пластинке слизистой оболочки десны, на наш взгляд, ассоциировался с выраженностью акантоза. Частота встречаемости разной степени выраженности акантоза у больных пародонтитом с различным характером течения болезни после лечения представлены в таблице (таблица 62)

Т а б л и ц а 62 - Частота встречаемости разной степени акантоза у больных пародонтитом с различным течением болезни после базового курса терапии

Выраженность акантоза Течение пародонтита	Выраженный		Умеренный		Слабый	
	n	%	n	%	n	%
«Агрессивное»	28	53,8*	19	36,6	5	9,6
«Умеренно прогрессирующее»	20	40,0	19	38,0	11	22,0
«Медленно прогрессирующее»	17	32,7	18	34,6	17	32,7*
$\chi^2=17,681; \sqrt{4}; p=0,001$						

* - различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

Косвенным подтверждением этого факта являются данные о средней положительной корреляционной связи между числом пролиферирующих клеток, клеток с поврежденной ДНК и уровнем лимфомакрофагальной инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки десны ($r=0,56$, $p=0,0001$; и $r=0,50$, $p=0,0001$ - соответственно).

Таким образом, структурные изменения слизистой оболочки десны при пародонтите в динамике под влиянием базовой терапии характеризовались редукцией воспалительных изменений, при этом первой подвергалась обратному развитию инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами. Лимфомакрофагальный инфильтрат подвергался редукции неравномерно, в большинстве случаев плотность моноклеарной инфильтрации уменьшалась. Вместе с тем в 33,8% наблюдениях (биоптаты 52 пациентов) отмечалось сохранение клеточного инфильтрата умеренной и выраженной степени в собственной пластинке слизистой оболочки десны.

К ранним эффектам проведения базового курса лечения следует отнести угнетение активности воспалительного процесса, что проявлялось уменьшением выраженности инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами, а к отсроченным – медленное исчезновение мононуклеарного инфильтрата. Анализ результатов гистологического и иммуногистохимического исследований биоптатов слизистой оболочки десны позволил обосновать выделение 3-х групп больных пародонтитом, имеющих разный характер течения болезни (таблица 63).

Т а б л и ц а 63 - Гистологическая, морфометрическая характеристика слизистой оболочки десны больных пародонтитом в зависимости от характера течения хронического генерализованного пародонтита

Исследуемый признак	Степень признака	Исследуемые группы больных (характер течения пародонтита)		
		«Агрессивное»	«Умеренно прогрессирующее»	«Медленно прогрессирующее»
Мононуклеарный инфильтрат слизистой оболочки десны	Слабая	0	5(0,10)*	19(0,38)*^
	Умеренная	12(0,24)	21(0,42)*	21(0,42)*
	Выраженная	38(0,76)	24(0,48)*	10(0,20)*^
Нейтрофильные лейкоциты в собственной пластинке с/оболочки десны	Слабая	5(0,10)	7(0,14)	39(0,78)*^
	Умеренная	17(0,34)	22(0,44)	11(0,22)*^
	Выраженная	28(0,56)	21(0,42)	0

Продолжение таблицы 63

Нейтрофильные лейкоциты в эпителиальном компартменте десны	Слабая	2(0,04)	6(0,12)*	33(0,50)*^
	Умеренная	28(0,56)	16(0,32)*	13(0,26)*^
	Выраженная	20(0,40)	28(0,56)*	12(0,24)*^
Акантоз	Слабая	5(0,10)	11(0,22)*	14(0,28)*
	Умеренная	17(0,34)	19(0,38)	18(0,36)
	Выраженная	28(0,56)	20(0,40)*	18(0,36)*

* - статистически значимые различия по сравнению с биоптатами десны больных с «агрессивным» течением болезни,

^ - статистически значимые различия по сравнению с биоптатами десны больных с «умеренно прогрессирующим» течением болезни, $p < 0,05$, при использовании критерия χ^2 .

В первой группе пациентов при морфологическом исследовании в биоптатах десны на фоне проведенного курса терапии была зафиксирована редукция признаков воспаления. Статистически значимое уменьшение популяции иммунокомпетентных клеток в биоптатах десны данной группы больных отмечалось уже через две недели после начала курса лечения и к окончанию терапии были зафиксированы самые низкие значения показателей оценки иммуноморфологических маркеров. Эту группу составили 52 пациента с разной степенью пародонтита, клиническое течение которого характеризовалось как «медленно прогрессирующее». На фоне терапии редукция воспалительных изменений у данных пациентов протекала наиболее благоприятно и быстро, сопровождалась частичным восстановлением структуры слизистой оболочки десны.

Вторую группу составили 50 пациентов, клиническое течение пародонтита у которых характеризовалось как «умеренно прогрессирующее». На фоне терапии редукция воспалительных изменений у данных пациентов

протекала более медленно, но, в целом, благоприятно, и также сопровождалась частичным восстановлением структуры слизистой оболочки десны.

Третья группа, в которую вошли 52 пациента, характеризовалась наиболее неблагоприятным клиническим течением пародонтита – «агрессивным», и под влиянием базового лечения у данных пациентов отмечалось сохранение воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны при клинических признаках ремиссии пародонтита.

Для ответа на вопрос, насколько связаны структурные изменения в слизистой оболочке десны, имевшие место до лечения, и происходившие под влиянием проведенного базового курса лечения с индивидуальными генетическими особенностями больных пародонтитом, нами выполнена следующая часть исследования.

4.7 Гистологическое и иммуногистохимическое исследования биоптатов слизистой оболочки десны в зависимости от полиморфизма генов воспалительных цитокинов

При сопоставлении данных морфологического и молекулярно-генетического исследований установлено, что в собственной пластинке слизистой оболочки десны больных пародонтитом до инициации лечения воспалительный инфильтрат имел выраженную, умеренную реже - слабую степень, при этом воспалительная реакция выраженной степени статистически значимо чаще определялась у больных с генотипом *C/T* и *T/T* гена *IL-1β* (*C - 511 T*), чем у пациентов с генотипом *C/C* гена *IL-1β* (*C - 511 T*) (таблица 64).

Т а б л и ц а 64 - Морфометрическая характеристика слизистой оболочки десны больных пародонтитом в зависимости от полиморфизма гена *IL-1 β* (*C-511 T*)

Исследуемый признак	Степень признака	Генотип <i>IL-1β</i> (<i>C-511 T</i>)			Носители аллелей гена <i>IL-1β</i> (<i>C-511 T</i>)	
		<i>C/C</i> (n=44) абс. (доля)	<i>C/T</i> (n=92) абс. (доля)	<i>T/T</i> (n=14) абс. (доля)	<i>C</i> (n=180) абс. (доля)	<i>T</i> (n=120) абс. (доля)
Мононуклеарный инфильтрат слизистой оболочки десны	Слабая	22 (0,50)*	2 (0,02)	0	48 (0,26) \wedge	2 (0,02)
	Умеренная	21 (0,48)	31 (0,34)*	2 (0,14)	73 (0,41) \wedge	35 (0,29)
	Выраженная	1 (0,02)	59 (0,64)	12 (0,86) *	61 (0,33)	83 (0,69) \wedge
Нейтрофильные лейкоциты в компартментах с/оболочки десны	Слабая	26 (0,59)*	22 (0,24)	0	74 (0,41) \wedge	0
	Умеренная	18 (0,41)*	29 (0,32)	4 (0,28)	65 (0,36) \wedge	37 (0,31)
	Выраженная	0	41 (0,44)	10 (0,72) *	41 (0,23)	61 (0,69) \wedge

* - статистически значимые различия между генотипами, $p < 0,05$; \wedge - статистически значимые различия между аллелями, $p < 0,05$, при использовании критерия χ^2 .

Также степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны оказалась максимальной у носителей генотипа *T/T*, в меньшей степени - генотипа *C/T*, по сравнению с пациентами с генотипом *C/C* гена *IL-1 β* (*C-511 T*).

Слабая и умеренная степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны статистически значимо чаще ассоциировалась с носительством аллеля *C* гена *IL-1 β* (*C-511 T*). Кроме того, выраженный воспалительный инфильтрат в слизистой

оболочке десны статистически значимо чаще определялся у больных носителей аллеля *T*, а умеренный и слабый - у носителей *C* аллеля полиморфного локуса гена *IL-1β* (*C* -511 *T*), что позволяет говорить об ассоциации аллеля *T* с наличием более выраженного воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны.

При сопоставлении данных морфологического и молекулярно-генетического исследований установлено, что у больных с генотипом *C/T* и *T/T* гена *IL-1β* (*C*+3953 *T*) чаще, чем у пациентов с генотипом *C/C* гена *IL-1β* (*C*+3953 *T*) определялась воспалительная реакция выраженной степени, у носителей генотипа *C/C* воспалительный мононуклеарный инфильтрат в собственной пластинке слизистой оболочки десны характеризовался как умеренно и слабо выраженный (таблица 65).

Степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны была максимальной у носителей генотипов *C/T* и *T/T*, у пациентов с генотипом *C/C* гена *IL-1β* (*C*+3953 *T*) определялась умеренная и слабая степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны.

Соответственно - слабая и умеренная степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны статистически значимо чаще ассоциировалась с носительством аллеля *C* гена *IL-1β* (*C*+3953 *T*), а выраженный воспалительный мононуклеарный инфильтрат в слизистой оболочке десны статистически значимо чаще определялся у больных носителей аллеля *T*, а умеренный и слабый - у носителей *C* аллеля полиморфного локуса гена *IL-1β* (*C*+3953 *T*), что позволяет говорить об ассоциации аллеля *T* гена *IL-1β* (*C*+3953 *T*) с наличием более выраженного воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны.

Т а б л и ц а 65 - Морфометрическая характеристика слизистой оболочки десны больных пародонтитом в зависимости от полиморфизма гена *IL-1β* (C +3953T)

Исследуемый признак	Степень признака	Генотип <i>IL-1β</i> (C +3953 T)			Носители аллелей гена <i>IL-1β</i> (C +3953 T)	
		<i>C/C</i> (n=74) абс. (доля)	<i>C/T</i> (n=54) абс. (доля)	<i>T/T</i> (n=22) абс. (доля)	<i>C</i> (n=202) абс. (доля)	<i>T</i> (n=98) абс. (доля)
Мононуклеарный инфильтрат слизистой оболочки десны	Слабая	19 (0,26)*	5 (0,09)	0	43 (0,21)∧	5 (0,06)
	Умеренная	37 (0,50)*	11 (0,21)	6 (0,28)	85 (0,42)∧	23 (0,23)
	Выраженная	18 (0,24)	38 (0,70)	16 (0,72)*	74 (0,37)	70 (0,71)∧
Нейтрофильные лейкоциты в компартаментах с/оболочки десны	Слабая	31 (0,42)*	17 (0,31)	0	79 (0,39)∧	17 (0,18)
	Умеренная	35 (0,47)*	8 (0,15)	8 (0,36)	78 (0,38)∧	24 (0,24)
	Выраженная	8 (0,11)	29 (0,54)	14 (0,64)*	45 (0,23)	57 (0,58)∧

* - статистически значимые различия между генотипами, $p < 0,05$; ∧ - статистически значимые различия между аллелями, $p < 0,05$, при использовании критерия χ^2 .

При анализе морфометрических характеристик слизистой оболочки десны больных пародонтитом зависимости степени инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами и выраженности лимфомакрофагального клеточного инфильтрата от полиморфизма гена *IL-1RN (VNTR интрон 2)* не установлено (таблица 66).

Т а б л и ц а 66 - Морфометрическая характеристика слизистой оболочки десны больных пародонтитом в зависимости от полиморфизма гена *IL-1RN (VNTR интрон 2)*

Исследуемый признак	Степень признака	Генотип <i>IL-1RN (VNTR интрон 2)</i>			Носители аллелей гена <i>IL-1RN (VNTR интрон 2)</i>	
		<i>4R/4R</i> (n=70) абс. (доля)	<i>4R/2R</i> (n=76) абс. (доля)	<i>2R/2R</i> (n=4) абс. (доля)	<i>4R</i> (n=216) абс. (доля)	<i>2R</i> (n=84) абс. (доля)
Мононуклеарный инфильтрат слизистой оболочки десны	Слабая	12 (0,17)	12 (0,13)	0	36 (0,17)	12 (0,14)
	Умеренная	28 (0,40)	24 (0,35)	2 (0,50)	80 (0,37)	28 (0,33)
	Выраженная	30 (0,43)	40 (0,52)	2 (0,50)	100 (0,46)	44 (0,53)
Нейтрофильные лейкоциты в компартментах с/оболочки десны	Слабая	25 (0,36)	21 (0,28)	2 (0,50)	71 (0,33)	25 (0,30)
	Умеренная	21 (0,30)	29 (0,38)	1 (0,25)	71 (0,33)	31 (0,37)
	Выраженная	24 (0,34)	26 (0,34)	1 (0,25)	74 (0,34)	30 (0,33)

* - статистически значимые различия между генотипами, $p < 0,05$; \wedge -статистически значимые различия между аллелями, $p < 0,05$, при использовании критерия χ^2 .

Сопоставляя данные о степени выраженности воспалительного клеточного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны, определяемые у пациентов до инициации базового лечения и результаты молекулярно-генетического тестирования полиморфного локуса *G -308 A* гена *TNF α* нами установлено, что у больных с выраженной степенью воспалительной инфильтрации статистически значимо чаще определялись генотипы *A/A* и *G/A*. У больных с умеренной и слабой степенью воспаления в слизистой оболочке десны, статистически значимо чаще определялся генотип *G/G*. У носителей генотипов *A/A* и *G/A* степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны характеризовалась как выраженная и умеренная, при этом в биоптатах десны носителей генотипа *G/G* также было достаточно случаев выраженной степени инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами слизистой оболочки десны (23 биоптата из 80), но преобладали биоптаты с умеренной и слабой степенью данного признака (29 и 28 биоптатов - соответственно). А выраженность инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами оказалась не связана с носительством полиморфного аллеля *A* (таблица 67).

При анализе распределения аллелей полиморфного локуса гена *TNF α* (*G -308 A*) в биоптатах десны с разной степенью выраженности воспалительных изменений установлено, что статистически значимо чаще при выраженной степени лимфомакрофагальной инфильтрации, чем при слабой определялось носительство аллеля *A* гена *TNF α* (*G -308 A*). Данный факт позволяет считать аллель *A* гена *TNF α* (*G -308 A*) ассоциированным с более выраженным воспалением в слизистой оболочке десны при пародонтите.

При анализе степени воспаления, определяемой в слизистой оболочке десны в зависимости от генотипов полиморфного локуса гена *IL-4* (*интрон 3*) обнаружено, что статистически значимо чаще у больных с выраженной степенью воспаления в собственной пластинке слизистой оболочки десны определялся генотип *3R/3R*, умеренная степень выраженности воспалительного мононуклеарного инфильтрата определялась у обладателей

генотипа $2R/3R$ и $3R/3R$ гена $IL-4$ (интрон 3). У больных со слабой степенью воспаления 6 биоптатов из 90 определялись у носителей генотипа $3R/3R$, 16 биоптатов из 58 у носителей генотипа $2R/3R$ и 2 биоптата пациентов с генотипом $2R/2R$ гена $IL-4$ (интрон 3).

Т а б л и ц а 67 - Морфометрическая характеристика слизистой оболочки десны больных пародонтитом в зависимости от полиморфизма гена $TNF\alpha$ ($G-308A$)

Исследуемый признак	Степень признака	Генотип $TNF\alpha$ ($G-308A$)			Носители аллелей гена $TNF\alpha$ ($G-308A$)	
		G/G (n=80) абс. (доля)	G/A (n=64) абс. (доля)	A/A (n=6) абс. (доля)	G (n=224) абс. (доля)	A (n=76) абс. (доля)
Мононуклеарный инфильтрат слизистой оболочки десны	Слабая	18 (0,23)*	6 (0,09)	0	42 (0,19)^	6 (0,08)
	Умеренная	33 (0,41)	20 (0,31)	1 (0,17)*	86 (0,38)	22 (0,29)
	Выраженная	29 (0,36)	38 (0,60)	5 (0,83)*	96 (0,43)	48 (0,63)^
Нейтрофильные лейкоциты в компартментах с/оболочки десны	Слабая	28 (0,35)	19 (0,30)	1 (0,17)*	75 (0,33)	20 (0,26)
	Умеренная	29 (0,36)	20 (0,31)	3 (0,50)	78 (0,35)	26 (0,34)
	Выраженная	23 (0,29)	25 (0,39)*	2 (0,33)	71 (0,32)	29 (0,40)

* - статистически значимые различия между генотипами, $p < 0,05$; ^ - статистически значимые различия между аллелями, $p < 0,05$, при использовании критерия χ^2 .

Так у носителей аллеля *2R* статистически значимо чаще были признаки слабо выраженного мононуклеарного инфильтрата собственной пластинки слизистой оболочки десны и аллель *3R* преобладал у больных с выраженными воспалительными изменениями, у носителей аллеля *3R* в 84 из 238 случаев и у носителей аллеля *2R* в 24 из 62 случаев имелись признаки умеренно выраженного воспалительного инфильтрата собственной пластинки слизистой оболочки десны (таблица 68).

Т а б л и ц а 68 - Морфометрическая характеристика слизистой оболочки десны больных пародонтитом в зависимости от полиморфизма гена *IL-4* (*интрон 3*)

Исследуемый признак	Степень признака	Генотип <i>IL-4</i> (<i>интрон 3</i>)			Носители аллелей гена <i>IL-4</i> (<i>интрон 3</i>)	
		<i>3R/3R</i> (n=90) абс. (доля)	<i>3R/2R</i> (n=58) абс. (доля)	<i>2R/2R</i> (n=2) абс. (доля)	<i>3R</i> (n=238) абс. (доля)	<i>2R</i> (n=62) абс. (доля)
Мононуклеарный инфильтрат слизистой оболочки десны	Слабая	6 (0,07)	16 (0,28)*	2 (1,0)*	28 (0,12)	20 (0,33) ^Λ
	Умеренная	30 (0,33)*	24 (0,41)*	0	84 (0,35)	24 (0,40)
	Выраженная	54 (0,60)*	18 (0,31)	0	126 (0,53) ^Λ	18 (0,27)
Нейтрофильные лейкоциты в компартментах с/оболочки десны	Слабая	20 (0,22)	26 (0,45)	2 (1,0)	66 (0,26)	30 (0,48) ^Λ
	Умеренная	35 (0,38)*	18 (0,31)	0	88 (0,37) ^Λ	18 (0,29)
	Выраженная	37 (0,40)*	14 (0,24)	0	88 (0,37) ^Λ	14 (0,23)

* - статистически значимые различия между генотипами, $p < 0,05$; ^Λ - статистически значимые различия между аллелями, $p < 0,05$, при использовании критерия χ^2 .

Статистически значимо чаще у носителей генотипа *3R/3R* и аллеля *3R* определялись признаки выраженной и умерной инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами компартментов слизистой оболочки десны. Эти данные позволяют считать аллель *3R* гена *IL-4* (*интрон 3*) ассоциированным с более выраженным воспалением в слизистой оболочке десны при пародонтите.

Показатели оценки фенотипа клеток воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны у больных пародонтитом в зависимости от полиморфизма генов воспалительных цитокинов представлены в таблице (таблица 69). У больных пародонтитом, носителей аллеля *T* гена *IL-1β* (*C -511 T*), *T* гена *IL-1β* (*C+3953 T*), аллеля *A* гена *TNFα* (*G -308 A*) и аллеля *3R* гена *IL-4* (*интрон 3*) фенотипически в компартментах слизистой оболочки десны отмечалось наибольшее количество клеток с фенотипом *CD20+*, *CD4+*, *CD45RO+* и *CD8+*. Количество интраэпителиальных *CD8+* и *CD45RO+* Т-лимфоцитов было максимальным, а значит - в воспалительном инфильтрате имелось большое количество клеток участников иммунного синапса (*CD45RO+* Т-лимфоцитов и *CD68+* - макрофагов). И, соответственно, у носителей гомозиготных генотипов *T/T* гена *IL-1β* (*C -511 T*), *T/T* гена *IL-1β* (*C+3953 T*), *A/A* гена *TNFα* (*G -308 A*) и *3R/3R* гена *IL-4* (*интрон 3*) в компартментах слизистой оболочки десны отмечалось наибольшее количество клеток с фенотипом *CD20+*, *CD4+*, *CD45RO+* и *CD8+*.

У пациентов обладателей аллелей *C* гена *IL-1β* (*C -511 T*), *C* гена *IL-1β* (*C+3953 T*), аллеля *G* гена *TNFα* (*G -308 A*) и аллеля *2R* гена *IL-4* (*интрон 3*) отмечалось наименьшее количество клеток с фенотипом *CD20+*, *CD4+*, *CD45RO+* и *CD8+*, интраэпителиальная локализация *CD8+* и *CD45RO+* Т-лимфоцитов была значительно менее выражена, количество клеток участников иммунного синапса (*CD45RO+* Т-лимфоцитов и *CD68+* - макрофагов) было практически таким же. При оценке иммуногистохимических маркеров в воспалительном инфильтрате у лиц с гомозиготными генотипами *C/C* гена *IL-1β* (*C -511 T*), *C/C* гена *IL-1β* (*C+3953*

T), G/G гена *TNF α* (G -308 A) и 2R/2R гена *IL-4* (интрон 3) отмечалось наименьшее количество клеток с фенотипом CD20+, CD4+, CD45RO+ и CD8+.

Т а б л и ц а 69 - Показатели оценки фенотипа клеток воспалительного инфильтрата в биоптатах десны больных пародонтитом в зависимости от полиморфизма генов воспалительных цитокинов

ИГХ маркер	Генотип <i>IL-1β</i> (C-511 T)			Носители аллелей гена <i>IL-1β</i> (C-511 T)	
	C/C (n=44)	C/T (n=92)	T/T (n=14)	C (n=180)	T (n=120)
CD4+	73,64 \pm 8,54	101,19 \pm 7,6 6	109,82 \pm 9,1 1	83,32 \pm 9,42	104,67 \pm 8,12
CD8+	39,56 \pm 5,29	50,52 \pm 6,28	51,28 \pm 8,41	41,32 \pm 6,11	48,65 \pm 5,85
CD20+	32,27 \pm 5,46	52,84 \pm 5,96	57,35 \pm 6,19	34,93 \pm 6,31	54,01 \pm 7,72
CD45 RO	33,46 \pm 5,48	45,87 \pm 8,15	48,46 \pm 7,58	36,74 \pm 6,84	46,21 \pm 6,42
CD68+	37,86 \pm 5,46	44,87 \pm 8,47	47,65 \pm 6,28	40,28 \pm 4,95	44,95 \pm 5,85
ИГХ маркер	Генотип <i>IL-1β</i> (C +3953 T)			Носители аллелей гена <i>IL-1β</i> (C +3953 T)	
	C/C (n=74)	C/T (n=54)	T/T (n=22)	C (n=202)	T (n=98)
CD4+	78,47 \pm 8,14	104,85 \pm 8,5 7	108,69 \pm 9,4 5	85,32 \pm 9,57	101,85 \pm 10,1 1
CD8+	39,54 \pm 10,14	48,47 \pm 9,25	51,95 \pm 7,89	42,27 \pm 7,38	48,33 \pm 6,24
CD20+	42,29 \pm 8,85	55,74 \pm 8,21	58,65 \pm 6,57	46,08 \pm 6,58	54,03 \pm 8,36
CD45 RO	36,21 \pm 4,24	44,95 \pm 7,48	49,57 \pm 7,52	37,91 \pm 5,87	46,88 \pm 7,33
CD68+	38,57 \pm 7,41	43,87 \pm 8,61	47,69 \pm 7,24	41,06 \pm 4,58	44,90 \pm 6,88
ИГХ маркер	Генотип <i>IL-1RN</i> (VNTR интрон 2)			Носители аллелей гена <i>IL-1RN</i> (VNTR интрон 2)	
	4R/4R (n=70)	4R/2R (n=76)	2R/2R (n=4)	4R (n=216)	2R (n=84)
CD4+	86,96 \pm 6,58	87,54 \pm 8,65	97,28 \pm 8,74	90,13 \pm 10,1 4	95,21 \pm 9,24
CD8+	39,87 \pm 9,78	46,85 \pm 9,14	47,58 \pm 4,58	43,79 \pm 5,87	44,95 \pm 8,27
CD20+	45,87 \pm 6,13	49,41 \pm 9,51	51,25 \pm 5,2	48,31 \pm 8,14	49,28 \pm 8,57
CD45 RO	38,85 \pm 4,55	55,74 \pm 7,22	58,74 \pm 5,92	40,11 \pm 5,48	57,24 \pm 6,21
CD68+	38,21 \pm 5,82	38,41 \pm 7,47	40,96 \pm 8,01	41,78 \pm 8,14	42,76 \pm 6,18

Продолжение таблицы 69

ИГХ маркер	Генотип <i>TNFα</i> (G -308 A)			Носители аллелей гена <i>TNFα</i> (G -308 A)	
	G/G (n=80)	G/A (n=64)	A/A (n=6)	G (n=224)	A (n=76)
CD4+	84,70±8,88	96,98±9,47	104,66±10,41	88,12±7,24	98,37±9,11
CD8+	42,01±7,69	46,34±7,58	50,33±8,65	43,28±7,05	47,10±8,32
CD20+	45,38±7,98	51,22±9,65	56,51±10,21	47,05±8,32	52,01±9,47
CD45RO	37,38±9,47	43,37±7,01	49,57±7,68	39,10±7,96	44,26±8,47
CD68+	40,47±7,32	43,41±4,88	46,32±5,69	41,32±9,84	43,84±6,87
ИГХ маркер	Генотип <i>IL-4</i> (интрон 3)			Носители аллелей гена <i>IL-4</i> (интрон 3)	
	3R/3R (n=90)	3R/2R (n=58)	2R/2R (n=2)	3R (n=238)	2R (n=62)
CD4+	98,21±10,21	81,13±9,63	43,26±6,74	93,52±10,85	78,58±8,47
CD8+	46,93±7,54	40,68±4,68	28,54±5,91	45,41±9,54	39,42±7,02
CD20+	51,81±8,81	43,69±7,24	27,28±7,11	49,82±9,47	42,55±8,14
CD45RO	43,87±6,58	35,72±6,90	22,54±7,01	41,88±8,11	34,71±7,51
CD68+	43,81±6,91	39,55±5,12	28,21±4,46	42,76±7,61	38,87±7,33

4.8 Проспективное исследование больных пародонтитом после базового лечения

Для понимания, какое значение имеет персистенция воспалительного инфильтрата в десне у ряда больных на фоне клинических признаков ремиссии болезни после базового курса терапии для дальнейшего течения пародонтита, нами продолжено открытое когортное проспективное исследование.

Исследование было продолжено в двух группах больных: основная группа из 75 пациентов (23 с «агрессивным», 22 с «умеренно прогрессирующим» и 30 с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита), которые находились под динамическим наблюдением в течение 12 месяцев, так как не дали согласие на хирургическое устранение пародонтальных карманов, и группа сравнения из 75 пациентов (27 с «агрессивным», 28 с «умеренно прогрессирующим» и 20 с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита), которые дали согласие на проведение хирургического этапа лечения, и наблюдались, как и пациенты основной группы, 12 месяцев.

После окончания курса базовой терапии всем пациентам было рекомендовано продолжение подобранного ранее гигиенического режима для поддержания удовлетворительного уровня гигиены полости рта. Оценка клинического течения заболевания у пациентов была проведена через 2 месяца после окончания терапии, так как мотивация к сохранению уровня гигиенических навыков составляет, в среднем, 56 дней и через 1 год после базового курса терапии. В период после окончания базового курса терапии всем пациентам было рекомендовано обращаться при первых клинических признаках обострения пародонтита.

Оценка структурных изменений в слизистой оболочке десны проводилась в те же сроки при выполнении хирургического этапа лечения и при выполнении гигиенических процедур, требующих обезболивания.

Наиболее неблагоприятно период после проведения курса базовой терапии протекал у больных пародонтитом средней и тяжелой степени с «агрессивным» течением заболевания. Тринадцать из 26 пациентов этой группы обратились в первые 6 месяцев после начального курса лечения и 8 больных легким пародонтитом обратились через 8 – 12 месяцев после окончания лечения.

Пациенты с «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением пародонтита, имевшие среднюю и тяжелую степень пародонтита, обращались с жалобами на появление клинических признаков пародонтита через 9 месяцев после начального лечения, из 26 пациентов с рецидивом клинических симптомов их оказалось трое.

При возникновении у пациентов жалоб на появление признаков воспаления в различных зонах десны проводился повторный курс фармако-механической обработки пародонтальных карманов до устранения появившихся симптомов.

При клиническом обследовании пациентов через 2 и 12 месяцев после проведения базового курса терапии установлено, что уровень гигиены полости рта через 12 месяцев имел тенденцию к снижению, учитывая, что между сроками обследования у 26 пациентов проводились гигиенические процедуры, в целом, сохранился на удовлетворительном уровне (рисунок 54). Для значений индекса ПМА, индекса кровоточивости, пародонтального индекса ПИ отмечена такая же закономерность как для индекса гигиены полости рта (рисунки 55, 56, 57).

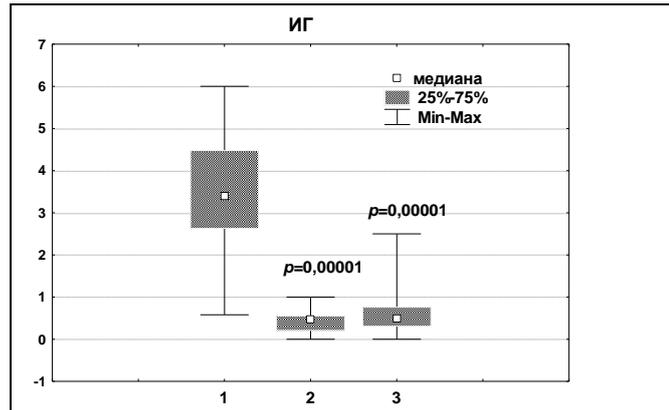


Рисунок 54 - Динамика индекса гигиены полости рта; 1-показатель до лечения; 2- показатель через 2 месяца после курса лечения; 3- показатель через 12 месяцев после курса лечения. Примечание: - различия статистически значимы в сравнении с показателем до лечения.

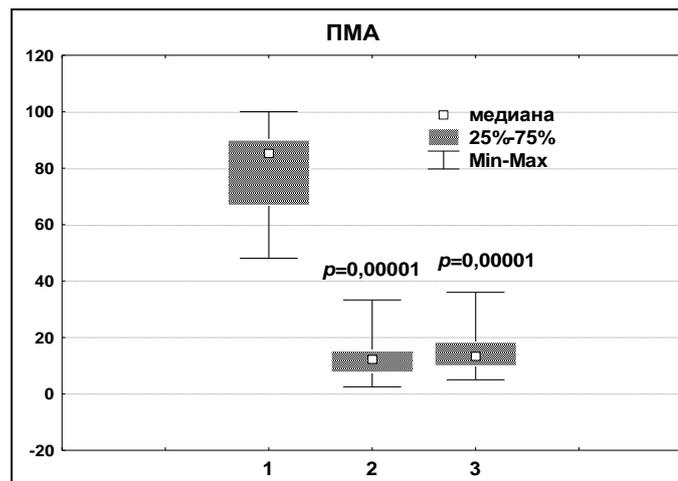


Рисунок 55 - Динамика ПМА индекса; 1-показатель до лечения; 2- показатель через 2 месяца после курса лечения; 3- показатель через 12 месяцев после курса лечения. Примечание: - различия статистически значимы в сравнении с показателем до лечения.

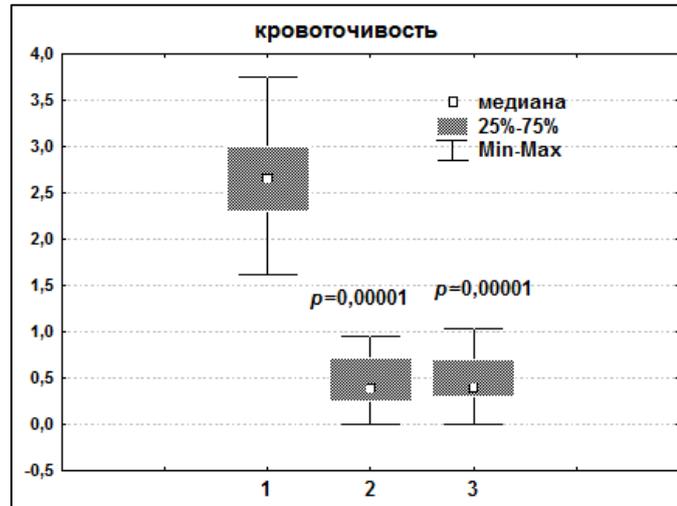


Рисунок 56 - Динамика индекса кровоотчивости; 1-показатель до лечения; 2- показатель через 2 месяца после курса лечения; 3- показатель через 12 месяцев после курса лечения. Примечание: - различия статистически значимы в сравнении с показателем до лечения.

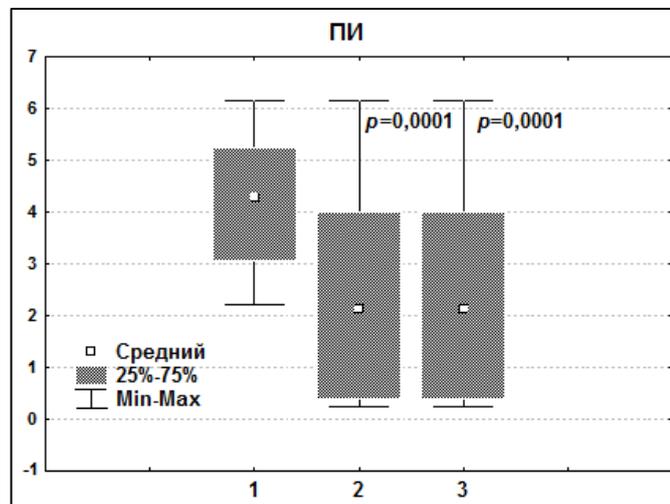


Рисунок 57 - Динамика пародонтального индекса ПИ; 1-показатель до лечения; 2- показатель через 2 месяца после курса лечения; 3- показатель через 12 месяцев после курса лечения. Примечание: - различия статистически значимы в сравнении с показателем до лечения.

4.9 морфологическая характеристика биоптатов десны больных пародонтитом через 2 и через 12 месяцев после базового курса терапии

При оценке морфологических изменений в слизистой оболочке десны через 2 месяца после окончания базового курса терапии установлено, что у больных с «агрессивным» течением пародонтита через 2 месяца степень выраженности мононуклеарной инфильтрации не изменилась. При обследовании этих больных через 12 месяцев степень выраженности воспаления в слизистой оболочке десны не изменилась, а степень нейтрофильной инфильтрации повысилась (таблица 71). Все 23 пациента с «агрессивным» течением пародонтита из основной группы обратились с клиническими признаками обострения заболевания в течение 12 месяцев (с третьего по двенадцатый месяцы) после проведения базового курса терапии.

У больных основной группы с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита через 2 месяца после окончания базового курса терапии в биоптатах 11 пациентов (50%) выраженность инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами повысилась, в биоптатах 7 пациентов (31,8%) увеличилась степень выраженности мононуклеарной инфильтрации в собственной пластинке слизистой оболочки десны. Первый пациент из данной группы обратился с клиническими признаками обострения заболевания только через 9 месяцев после окончания базового курса терапии.

У больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита при обследовании через 2 месяца после окончания лечения в 16 (53,3%) биоптатах десны отмечалось минимальное количество нейтрофильных лейкоцитов и минимальное количество лимфоцитов. При обследовании через 12 месяцев после окончания лечения у 25 (83,3%) пациентов в компартментах слизистой оболочки десны признаки воспаления практически не определялись. И лишь у 1 пациента из данной группы через 12 месяцев отмечены клинические признаки обострения заболевания (таблица 72).

Т а б л и ц а 71 - Морфологическая характеристика биоптатов десны пациентов с «агрессивным» течением пародонтита из основной группы (лица, находившихся под наблюдением в течение 12 месяцев, n=23)

Срок исследования	Степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами слизистой оболочки десны n (%)			Степень мононуклеарной инфильтрации слизистой оболочки десны n (%)			
	выраженная	умеренная	слабая	выраженная	умеренная	слабая	нет
После лечения	-	-	23 (100,0)	5 (21,7)	18 (78,3)	-	-
Через 2 месяца	-	3 (13,0)	20 (87,0)	5 (21,7)	18 (78,3)	-	-
Через 12 месяцев	-	8 (34,8)*	15 (65,2)*	-	21 (91,3)*	2 (8,7)*	-
	$\chi^2=10,599; p=0,005$			$\chi^2=9,316; p=0,054$			

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Т а б л и ц а 72 - Морфологическая характеристика биоптатов десны пациентов с «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением пародонтита из основной группы (лица, находившихся под наблюдением в течение 12 месяцев, n=52)

Срок исследования	Степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами слизистой оболочки десны n (%)			Степень мононуклеарной инфильтрации слизистой оболочки десны n (%)			
	выраженная	умеренная	слабая	выраженная	умеренная	слабая	нет признаков
После лечения	-	-	52 (100,0)	-	-	52 (100,0)	-
Через 2 месяца	-	-	52 (100,0)	-	-	36 (69,2)	16 (30,8)*
Через 12 месяцев	-	12 (23,0)*	40 (77,0)		8 (15,3)*	19 (30,7)	25 (54,0)*
	$\chi^2=8,156; p=0,017$			$\chi^2=10,927; p=0,002$			

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

У пациентов группы сравнения, которым было проведено хирургическое устранение пародонтальных карманов за период наблюдения 12 месяцев не было случаев рецидива клинических симптомов пародонтита. При обследовании 33 пациентов из данной группы через 12 месяцев возникла необходимость в выполнении гигиенических процедур, частичной коррекции тканей десны, требующих обезболивания, при выполнении данных

манипуляций производили забор биоптатов десны для гистологического исследования. В 8 случаях определялась минимальная степень мононуклеарной инфильтрации, в остальных 25 биоптатах признаки воспалительной инфильтрации практически отсутствовали (таблица 73).

Т а б л и ц а 73 - Морфологическая характеристика биоптатов десны пациентов из группы сравнения через 2 месяца и через 12 месяцев после базового лечения

Срок исследования	Степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами слизистой оболочки десны n (%)			Степень мононуклеарной инфильтрации слизистой оболочки десны n (%)			
	выраженная	умеренная	слабая	выраженная	умеренная	слабая	нет признаков
После лечения (n=75)	-	3 (4,0)	72 (96,0)	4 (5,3)	25 (33,3)	46 (61,4)	
Через 2 месяца (n=75)	-	8 (10,7)*	67 (89,3)*	4 (5,3)	25 (33,3)	46 (61,4)	-
Через 12 месяцев (n=33)	-	-	33 (100,0)*	-	-	8 (24,2) *	25 (75,8) *
	$\chi^2=12,234; p=0,01$			$\chi^2=80,29; p=0,0001$			

* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2).

Таким образом, сохранение воспалительного клеточного инфильтрата в слизистой оболочке десны после проведения курса базовой терапии, на наш взгляд, влияло на сроки рецидивирования клинических признаков у больных пародонтитом. Первые пациенты с рецидивом клинических проявлений

заболевания начали обращаться за помощью через 3 месяца после завершения базового курса терапии, все они имели морфологические признаки персистенции воспалительного клеточного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны по окончании базового курса лечения и относились к группе больных с «агрессивным» течением пародонтита (рисунок 58).

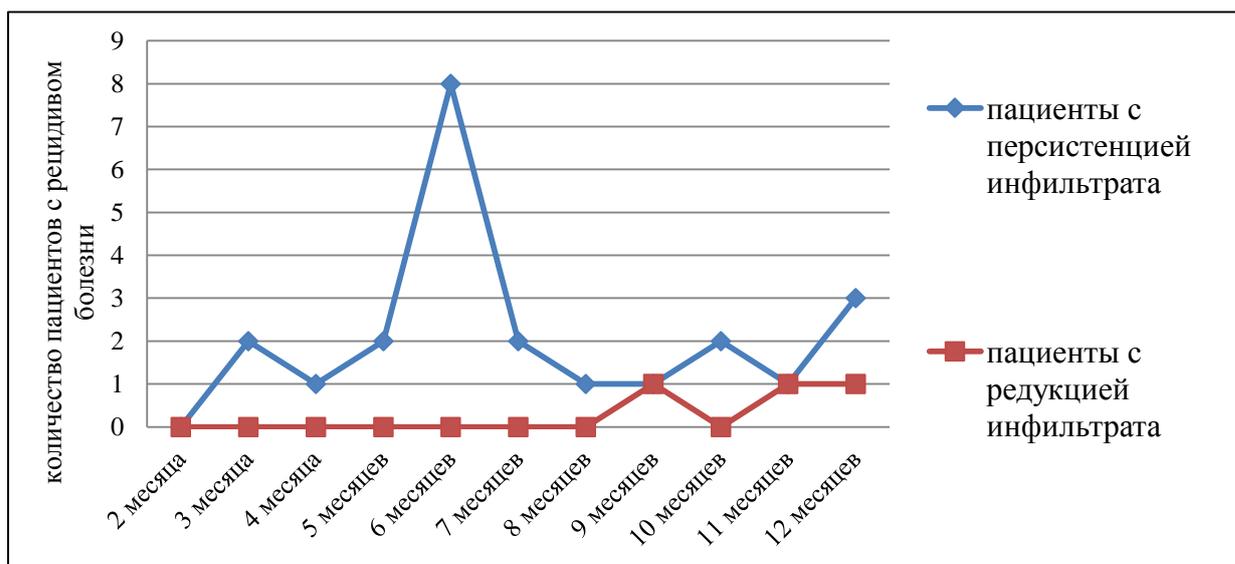


Рисунок 58 - Частота рецидивирования клинических симптомов пародонтита после базового курса терапии у больных с признаками персистенции и регресса воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны.

4.10 Клинико-морфологическая характеристика течения хронического генерализованного пародонтита после базового курса терапии и генетический полиморфизм генов цитокинов

Результаты проведенного исследования с оценкой структурных изменений слизистой оболочки десны в динамике под влиянием базового курса терапии и в течении 12 месяцев после него, свидетельствуют о гетерогенности течения хронического пародонтита при элиминации инфекта. На наш взгляд, сохранение мононуклеарного инфильтрата в собственной

пластинке слизистой оболочки десны у части пациентов оказывало влияние на функциональное состояние слизистой оболочки десны. В связи с этим, одним из составляющих прогнозирования течения хронического пародонтита, можно считать выявление факторов, способствующих сохранению воспаления на структурном уровне.

Как было показано выше, после проведенного курса терапии и в течение 12 месяцев после лечения течение хронического генерализованного пародонтита у пациентов было неодинаковым, при этом степень выраженности воспалительных изменений до инициации терапии не определяла течение пародонтита в последующий период наблюдения.

Поэтому мы провели сопоставление результатов морфологического исследования течения воспаления в слизистой оболочке десны и генетического тестирования больных пародонтитом после лечения в результате чего, установлено, что в группе пациентов, у которых сохранялся воспалительный инфильтрат (персистенция воспалительного инфильтрата) в собственной пластинке слизистой оболочки десны после лечения (больные с «агрессивным» течением пародонтита) статистически значимо чаще выявлялся аллель *T* гена *IL-1β* (*C -511 T*), чем в группе лиц, у которых произошел регресс воспалительного инфильтрата под влиянием базового курса терапии (больные с «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением пародонтита) (таблица 74).

При изучении частоты встречаемости нуклеотидной замены *C+3953 T* гена *IL-1β*, у больных хроническим генерализованным пародонтитом с регрессом воспалительного инфильтрата и персистенцией воспалительного инфильтрата установлено, что у пациентов с редукцией и пациентов с персистенцией воспалительного инфильтрата в тканях десны после проведенного лечения, различий в распределении аллелей полиморфного локуса *C+3953 T* гена *IL-1β* не определялось.

Т а б л и ц а 74 - Аллели, определяемые у больных пародонтитом с персистенцией и регрессом воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны после базового курса лечения

Изучаемые аллели	Персистенция воспалительного инфильтрата (n=50)		Регресс воспалительного инфильтрата (n=100)	
	n	%	n	%
<i>IL-1β (C-511 T)</i>				
<i>C</i>	47	47,0	133	66,5
<i>T</i>	53	53,0*	67	33,5
$\chi^2=9,766; p=0,002$				
* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2)				
<i>IL-1β (C+3953 T)</i>				
<i>C</i>	65	65,0	137	68,5
<i>T</i>	35	35,0	63	31,5
$\chi^2=0,362; p=0,632$				
Отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2)				
<i>IL-1RN (VNTR интрон 2)</i>				
<i>4R</i>	53	53,0	163	81,5
<i>2R</i>	47	47,0*	37	18,5
$\chi^2=10,875; p=0,004$				
* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2)				
<i>TNFα (G-308 A)</i>				
<i>G</i>	62	62,0	162	81
<i>A</i>	38	38,0*	38	19
$\chi^2=9,499; p=0,009$				
* - различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2)				
<i>IL -4(VNTR интрон 3)</i>				
<i>2R</i>	25	25,0	37	18,5
<i>3R</i>	75	75,0	163	81,5
$\chi^2=1,344; p=0,246$				
Отсутствуют статистически значимые различия между группами (критерий χ^2)				

При изучении частоты встречаемости аллелей гена *IL-1RN* (*VNTR* интрон 2) у больных пародонтитом с регрессом воспалительного инфильтрата и персистенцией воспалительного инфильтрата после проведения терапии установлено, что статистически значимо чаще у больных с признаками персистенции воспалительного инфильтрата встречался аллель *2R* гена *IL-1RN* (*VNTR* интрон 2).

При анализе частоты встречаемости аллелей полиморфного локуса *G - 308 A* гена *TNF α* в группах больных хроническим генерализованным пародонтитом с регрессом воспалительного инфильтрата и персистенцией воспалительного инфильтрата установлено, что статистически значимо чаще аллель *A* выявлялся в группе больных с признаками персистенции воспалительного инфильтрата в тканях десны.

При анализе частоты встречаемости аллелей полиморфного локуса (*VNTR* интрон 3) гена *IL -4* у больных хроническим генерализованным пародонтитом в группах пациентов с регрессом воспалительного инфильтрата и персистенцией воспалительного инфильтрата установлено, что статистически значимых различий по частоте встречаемости аллелей *2R* и *3R* не определяется.

Таким образом, в группе больных хроническим генерализованным пародонтитом, характеризующейся персистенцией воспалительного инфильтрата в тканях десны, статистически значимо чаще определялись аллели *T** гена *IL-1 β* (*C -511 T*), *2R* полиморфного локуса (*VNTR* интрон 2) гена *IL-1RN*, *A** гена *TNF α* (*G -308 A*) (рисунок 59).

Учитывая, что несколько полиморфных локусов генов *IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* были ассоциированы с феноменом персистенции воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны после базового лечения, нами были проанализированы комбинации данных аллелей с генотипами *3R3R*, *3R2R IL-4* (*VNTR* интрон 3) у больных пародонтитом, так

как при анализе связи аллелей *3R* и *2R* с персистенцией или регрессом воспалительного инфильтрата различий по данным аллелям не было установлено.

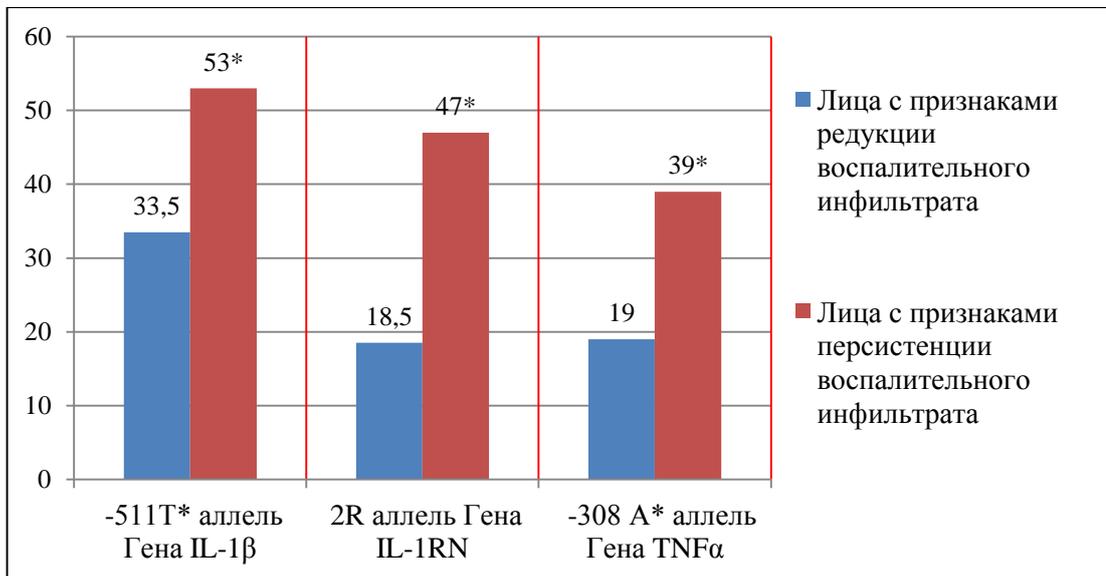


Рисунок 59 - Распределение аллелей полиморфных локусов генов *IL-1β*, *IL-1RN*, *TNFα* у больных пародонтитом с персистенцией и регрессом воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны после лечения.

Как видно из представленных данных (таблицы 75), в группе лиц с признаками регрессии воспалительного инфильтрата в тканях десны в 21% случаев отмечалось совместное носительство полиморфных аллелей -511 T* гена *IL-1β* и 2R* гена *IL-1RN*, а в группе лиц с признаками персистенции воспалительного инфильтрата – 80% случаев. В 40% случаев отмечался биаллельный полиморфизм -511 T* с +3953 T* гена *IL-1β* в группе больных с признаками регрессии воспалительного инфильтрата и в 30% случаев у пациентов с признаками персистенции воспалительного инфильтрата, из них 16% при совместном носительстве с аллелем -308 A* гена *TNFα* и генотипом 3R/3R гена *IL-4* (VNTR интрон 3).

Т а б л и ц а 75 - Связь полиморфных аллелей *IL -1 β* (C-511 T*), *IL -1 β* (C+3953 T*) и 2R* гена *IL-1RN* (VNTR интрон 2) с аллелем (G -308 A*) гена *TNF α* и генотипами 2R/3R и 3R/3R гена *IL -4* (VNTR интрон 3) у больных пародонтитом с персистенцией воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны после базового курса терапии

Аллели и генотипы (количество (%))	Больные с регрессом воспалительного инфильтрата (n=100)				Больные с персистенцией воспалительного инфильтрата (n=50)			
	-308 A // 2R/3R	-308 A // 3R/3R	-308 G // 2R/3R	- 308 G // 3R/3R	-308 A // 2R/3R	-308 A // 3R/3R	-308 G // 2R/3R	- 308 G // 3R/3R
-511 T/ +3953 T/ 2R	-	-	9 (9%)	7 (7%)	-	5 (10%)	-	7 (14%)
-511 T/ +3953 T/ 4R	15 (15%)	-	-	9 (9%)	-	3 (6%)	-	-
-511 T/ +3953 C/ 2R	-	-	-	5 (5%)	12 (24%)	11 (22%)	-	5 (10%)
-511 T/ +3953 C/ 4R	-	2 (2%)	6 (6%)	10 (10%)	-	-	-	-
-511 C/ +3953 T/ 2R	-	-	-	3 (3%)	-	7 (14%)	-	-
-511 C/ +3953 T/ 4R	4 (4%)	-	-	7 (7%)	-	-	-	-
-511 C/ +3953 C/ 2R	-	-	9 (9%)	-	-	-	-	-
-511 C/ +3953 C/ 4R	11 (11%)	-	3 (3%)	-	-	-	-	-

В группе лиц с признаками персистенции воспалительного инфильтрата в тканях десны возрастает число носителей комбинации аллелей *-511 T** гена *IL-1 β* и *2R** гена *IL-1RN* с полиморфным аллелем *-308 A** гена *TNF α* и генотипом *3R3R* гена *IL-4* (32% случаев) и генотипом *3R2R* гена *IL-4* (24% случаев). При комбинации аллелей *-308 G* гена *TNF α* с генотипом *3R/3R* гена *IL-4* с полиморфными аллелями *-511 T** гена *IL-1 β* и *2R** гена *IL-1RN* вдвое чаще больные относились к группе с персистенцией воспалительного инфильтрата (24% и 12% - соответственно).

Полученные данные свидетельствуют, что характерной генетической характеристикой пациентов с персистенцией воспалительного инфильтрата в тканях десны можно считать ассоциацию аллелей полиморфных локусов *-511*T* гена *IL-1 β* / **2R* гена *IL-1RN*/ *-308A** гена *TNF α* и ассоциацию аллелей полиморфных локусов *-511*T* и *+3953*T* гена *IL-1 β* / **2R* гена *IL-1RN*/ *-308A** гена *TNF α* преимущественно с генотипом *3R3R* гена *IL-4*. Возможно, данное совместное носительство полиморфных аллелей *IL-1 β* с коротким аллелем *IL-1RN*2R* является основой персистенции воспалительного инфильтрата в десне пациентов и позволяет говорить о провоспалительной роли данных комбинаций аллелей.

4.11 Прогностические факторы неблагоприятного течения пародонтита после курса базовой терапии (персистенции воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны)

В качестве прогностических факторов нами тестировались все клинические и лабораторные признаки, выявление которых проводилось в процессе данного исследования до инициации базового лечения. Для того чтобы параллельно с оценкой эффективности эрадикационной базовой терапии, врач располагал инструментами прогнозирования течения хронического пародонтита и имел возможность обосновать объем и

последовательность предполагаемых вмешательств персонально для пациента.

Для того чтобы прогнозировать риск неблагоприятного течения пародонтита (сохранение мононуклеарного воспалительного инфильтрата) после базового лечения (период - 12 месяцев) у обследованных больных анализировались анамнестические, клинические, лабораторные данные и случаи сохранения воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны, рецидивирование клинических симптомов пародонтита.

Эти взаимоотношения определялись по характеру чувствительности и специфичности признаков. Под чувствительностью понимается доля лиц с положительным результатом теста в группе обследованных больных с изучаемым признаком. Специфичность – это доля лиц с отрицательным результатом теста у больных без изучаемого признака. Отношение правдоподобия для положительного результата (LR+) указывает на значимость признака для повышения уверенности относительно развития рецидива клинических признаков болезни и неблагоприятного течения периода после курса терапии.

LR+ показывает, во сколько раз определенное значение изучаемого предиктора или его выявление более вероятно у пациентов, в нашем случае, с неблагоприятным течением болезни после начального курса лечения, чем у пациентов с благоприятным течением периода после базовой терапии.

Отношение правдоподобия для отрицательного результата (LR-) указывает на значимость признака для повышения уверенности относительно отсутствия рецидива клинических признаков болезни и неблагоприятного течения периода после курса терапии.

В том случае, если отношение правдоподобия положительного результата теста равно 1, то это значит, что вероятность положительного результата теста у больного такая же, как вероятность положительного результата теста у здорового.

Преимущество вычисления отношений правдоподобия состоит в том, что они отражают одновременно и чувствительность, и специфичность теста и помогают выйти за рамки грубой классификации результатов теста (норма - патология).

Наибольшую информативность дает диагностический тест одновременно высокочувствительный и высокоспецифичный. Так как чувствительный тест дает положительный результат при наличии признака, а высокоспецифичный тест не дает положительный результат при отсутствии признака (в нашем случае этими признаками были: гистологическим – персистирующий мононуклеарный воспалительный инфильтрат в слизистой оболочке десны, клиническим – рецидив кровоточивости десны).

Были рассчитаны чувствительность и специфичность каждого из возможных предикторов. Согласно критериям медицины, основанной на доказательствах, признак считается высокочувствительным и специфичным при соответствующих значениях показателей более 70 (таблица 76)

По результатам оценки чувствительности и специфичности анамнестических данных и клинических показателей, характеризующих состояние тканей полости рта, установлено, что пол больных пародонтитом не имеет прогностической ценности по отношению к дальнейшему течению пародонтита после проведения курса терапии, так как у данной характеристики невысокая чувствительность и специфичность. Отношение правдоподобия для положительного и отрицательного результата равно - 1, что означает одинаковую вероятность неблагоприятного течения пародонтита после терапии для мужчин и для женщин.

Возраст пациента младше 36 лет в совокупности с другими показателями может являться предиктором неблагоприятного течения пародонтита после терапии, несмотря на невысокую чувствительность данного признака (рисунок 60).

Т а б л и ц а 76 - Чувствительность и специфичность анамнестических и клинических предикторов неблагоприятного течения пародонтита

Предикторы	Z statistic	P	Se, %	Sp, %	+LR	-LR
Пол больных пародонтитом	3,205	1,00	51,85	48,15	1,00	1,00
Возраст пациента *	2,028	0,04*	48,15	92,59	6,50	0,56
Курение*	4,017	0,001*	92,59	51,58	1,92	0,14
Давность болезни*	4,67	0,001*	66,67	70,37	1,59	0,88
Степень тяжести пародонтита	0,372	0,71	25,93	77,78	1,17	0,95
Глубина преддверия полости рта (< 5 мм)*	15,749	0,001*	100,00	88,89	9,00	0,00
Рецессия десны ($\geq 1,4$ мм)	1,194	0,23	62,69	66,67	1,89	0,56
Глубина пародонтального кармана ($\geq 3,48$ мм)*	2,653	0,01*	59,26	92,59	8,00	0,44
Подвижность зубов ($\geq 0,92$ балла)*	4,217	0,001*	100,0	100,0	-	-
Индекс гигиены полости рта	0,126	0,90	100,00	22,22	1,29	0,67
Индекс кровоточивости	0,667	0,50	40,00	74,07	1,54	0,81
ПИ	2,690	0,049*	69,26	70,37	2,00	0,58
КП (< 60,9)*	2,260	0,02*	55,56	74,07	2,14	0,60
ПМА ($\geq 55\%$)*	14,135	0,001*	92,59	88,89	8,33	0,08

* – данный показатель в данной точке исследования имеет прогностическое значение (предиктор) при $p < 0,05$. Se – Чувствительность; Sp – специфичность; +LR – Отношение правдоподобия для положительного результата; -LR – Отношение правдоподобия для отрицательного результата.

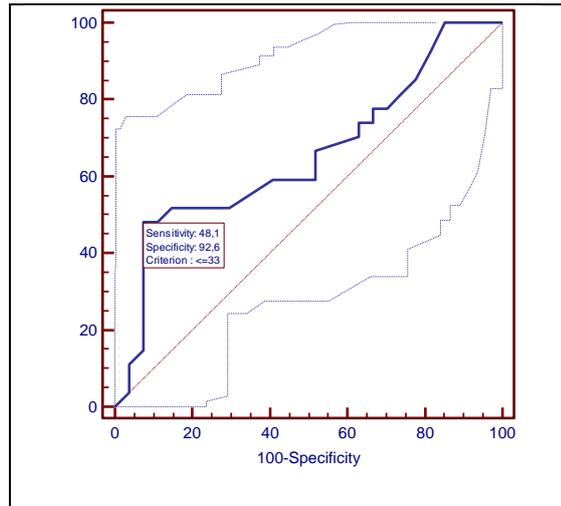


Рисунок 60 - Возраст пациентов – как предиктор «неблагоприятного» течения пародонтита после базового лечения.

Курящие пациенты, по результатам нашего исследования, имеют вероятность неблагоприятного течения пародонтита после терапии. У данного предиктора отмечена высокая чувствительность при низкой специфичности, при условии, что больной выкуривает более 20 сигарет в день (рисунок 61).

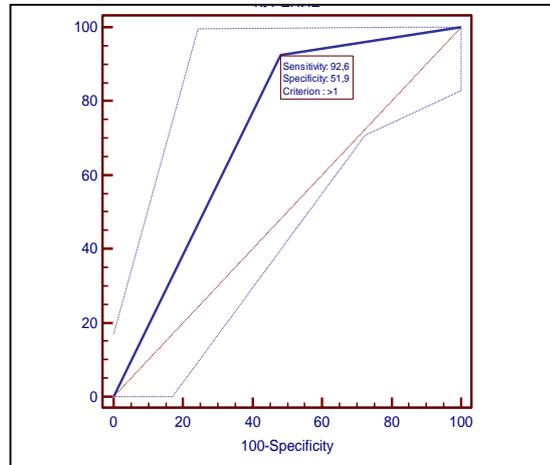


Рисунок 61 - Вредная привычка «курение» - как предиктор «неблагоприятного» течения пародонтита после базового лечения.

Давность болезни является достоверным предиктором для неблагоприятного течения пародонтита после терапии. Вместе с другими предикторами данные о длительности заболевания могут быть включены в модель для прогноза течения пародонтита.

Клиническая степень тяжести пародонтита не является достоверным предиктором неблагоприятного течения пародонтита после терапии. Несмотря на специфичность признака, превышающую 70%, у больного с любой степенью пародонтита возможен как неблагоприятный, так и благоприятный вариант течения болезни после начальной терапии.

Высококочувствительными и специфичными прогностическими анамнестическими и клиническими признаками по отношению к персистенции воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны и развитию рецидива клинических признаков пародонтита после базового курса терапии, определяемые до лечения, являются: мелкое преддверие полости рта (значения показателя менее 5 мм.); подвижность зубов выше 1 балла; индекс ПМА, если он превышает 55% (рисунок 62).

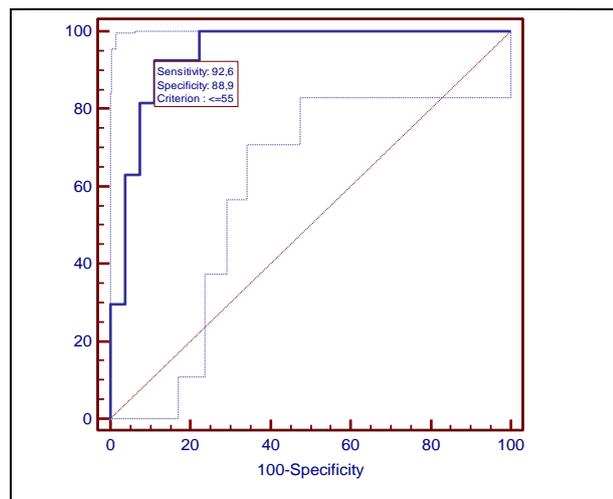


Рисунок 62 - Индекс ПМА – как предиктор «неблагоприятного» течения пародонтита после базового лечения.

Высокие прогностические качества клинических признаков, характеризующих выраженность и распространенность воспаления существенно снижаются или теряют значимость так как в рамках базового курса терапии изменяются уже через 14 дней, в нашем исследовании, значения индекса ПМА после лечения были ниже 12%, поэтому прогностической ценности индекс ПМА не имеет. Также подвижность зубов у пациентов

устраняется различными способами и прогностическая ценность данного показателя снижается после стабилизации подвижности зубов.

У всех больных пародонтитом, которые нуждались в пластике с целью углубления преддверия полости рта, после проведения операции значения показателя «глубина преддверия полости рта» превышали 8 мм., что определило использование данного показателя только для пациентов, которые отказываются от этого вмешательства.

Такие клинические характеристики пациента, отражающие степень деструкции тканей пародонта к моменту начального обследования, как глубина пародонтального зондирования более 3,48 мм, индекс кровоточивости, пародонтальный индекс (рисунок 63), костный показатель Фукса менее 60,9% продемонстрировали высокую специфичность по отношению к неблагоприятному течению пародонтита после проведения базовой терапии при невысокой чувствительности признаков (рис. 64). Значимость данных признаков в случае определения прогноза для пациента после проведенного базового лечения существенно снижается или отсутствует.

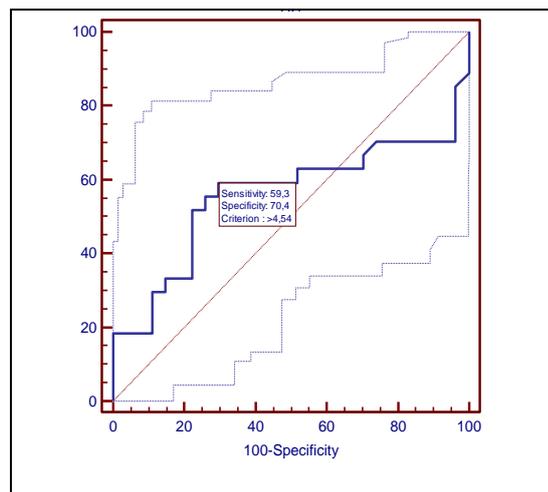


Рисунок 63 - Пародонтальный индекс – как предиктор «неблагоприятного» течения пародонтита после базового лечения.

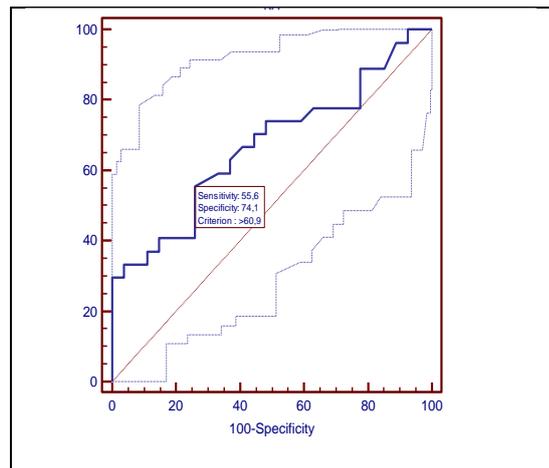


Рисунок 64 - Костный показатель Фукса – как предиктор «неблагоприятного» течения пародонтита после базового лечения.

Для клинических индексов гигиены полости рта, ПМА, клинического симптома гноетечения из пародонтального кармана определялись умеренные прямые корреляционные связи с показателями нейтрофильной инфильтрации и выраженности мононуклеарного воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны. Но по результатам анализа биоптатов десны до лечения и после базового курса терапии не установлено зависимости неблагоприятного течения пародонтита от активности воспаления, определяемой по наличие и выраженности инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами. Степень выраженности мононуклеарного воспалительного инфильтрата слизистой оболочки десны до инициации лечения также не является определяющим фактором для дальнейшего течения болезни, так как имеет невысокую специфичность, хотя демонстрирует высокую чувствительность и является статистически значимым, но только в 1,5 раза повышает вероятность неблагоприятного течения болезни после начальной терапии (таблица 77).

Т а б л и ц а 77 - Чувствительность и специфичность лабораторных предикторов неблагоприятного течения пародонтита после базового курса лечения

Предикторы	Z statistic	P	Se, %	Sp, %	+LR	- LR
Гистологическая степень воспаления *	2,473	0,01*	85,19	44,44	1,53	0,33
Микробиологические показатели биотопа полости рта (степень дисбиоза)	0,132	0,87	59,26	44,44	1,05	0,92
Наличие полиморфного аллеля <i>IL-1β-511*T</i>	3,201	0,04*	70,37	66,67	2,11	0,89
Наличие полиморфного аллеля <i>IL-1β+3953*T</i>	3,05	0,05	62,96	33,33	0,94	1,12
Наличие полиморфного аллеля <i>IL-1RN *2R</i>	32,28	0,001*	81,48	92,30	10,25	0,01
Наличие полиморфного аллеля <i>TNFα-308*A</i>	14,43	0,001*	85,19	96,59	28,4	0,15
Генотип <i>IL-4* 3R3R</i>	15,80	0,001*	81,18	44,67	1,48	0,42

* – данный показатель в данной точке исследования имеет прогностическое значение (предиктор) при $p < 0,05$. Se – Чувствительность; Sp – специфичность; +LR – Отношение правдоподобия для положительного результата; LR - Отношение правдоподобия для отрицательного результата.

Высокую чувствительность и специфичность по отношению к сохранению мононуклеарного воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны и неблагоприятному течению пародонтита после базового

курса терапии продемонстрировали почти все протестированные индивидуальные генетические характеристики пациентов. Наличие полиморфного аллеля гена *IL-1 β -511*T* двукратно повышает риск неблагоприятного течения пародонтита после лечения, а для носителей полиморфного аллеля гена *IL-1RN *2R* выявлен более, чем в 10 раз больший риск неблагоприятного течения пародонтита после лечения. Наличие у пациента полиморфного аллеля гена *TNF α - 308*A*, риск сохранения мононуклеарного воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны повышает в 28 раз.

При анализе прогностической ценности изученных выше признаков до инициации лечения и после окончания базового курса терапии установлено, что оценка выраженности воспаления в слизистой оболочке десны после курса лечения имеет высокое прогностическое значение для дальнейшего течения болезни. Субъективность в оценке выраженности гиперемии, наличии отека, кровоточивости при клиническом обследовании снижает ценность получаемой информации о состоянии тканей пародонта пациента, уступает в информативности гистологическому исследованию, которое позволяет определить клеточный состав инфильтрата его локализацию (рисунок 65).

Высокое прогностическое значение для неблагоприятного течения пародонтита после базового курса лечения имеют генетические тесты на наличие полиморфных аллелей генов цитокинов, что делает их удобными и надежными инструментами для прогноза, по сравнению с клиническими показателями.

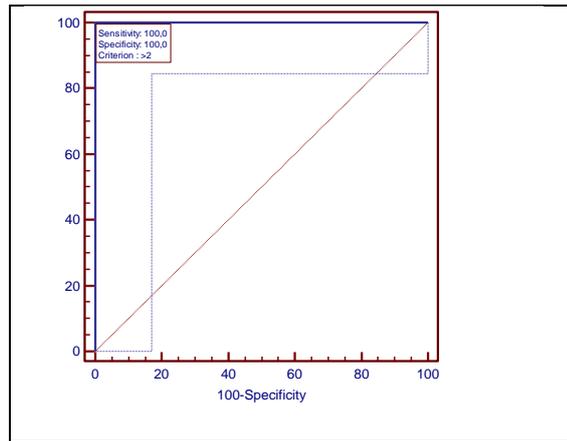


Рисунок 65 - Степень выраженности мононуклеарного инфильтрата после базового лечения – как предиктор «неблагоприятного» течения пародонтита.

В нашем исследовании мы сопоставили выводы о характере течения пародонтита с результатами, полученными на этапах проведения и после базовой терапии, со случаями рецидивирования клинических признаков болезни и проанализировали изменения, которые претерпел воспалительный инфильтрат, проанализировали комбинации полиморфных аллелей воспалительных цитокинов в группах больных с персистенцией и редукцией воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны с целью создания удобной модели для прогнозирования течения болезни и реализации персонализированного лечения этих больных.

Для начала построения модели дискриминации нами проанализирован вариант, при котором в модель дискриминации включены все достоверные предикторы сохранения воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны и рецидивирования клинических симптомов пародонтита у пациентов (таблица 78).

Т а б л и ц а 78 - Уровень значимости показателей пациента в общей дискриминации при варианте комбинации из 10 предикторов неблагоприятного течения пародонтита (Модель 0)

№	Предиктор	Результаты дискриминантного анализа			
		Wilks'	Partial	Fremove	p-level
1	Гистологическое исследование степень выраженности воспалительного инфильтрата	0,26	0,43	93,65	0,000001
2	Аллель <i>IL-1RN* 2R</i>	0,14	0,78	20,18	0,000001
3	Генотип <i>IL-4 3R3R</i>	0,14	0,83	14,72	0,000001
4	Возраст больного	0,13	0,85	12,64	0,00001
5	Давность болезни более 5 лет	0,12	0,91	6,67	0,002
6	Аллель <i>TNFα* -308A</i>	0,12	0,91	7,18	0,001
7	Глубина пародонтального кармана в области моляров более 3,48 мм	0,12	0,96	3,25	0,04
8	КП Фукса менее 60,9 %	0,12	0,96	2,54	0,08
9	ПИ >4,64 балла	0,12	0,98	1,72	0,18
10	Подвижность зубов более 0,92 балла	0,11	0,98	1,45	0,24

При использовании данной комбинации 10 предикторов уровень корректного прогноза достигает 90,6% для модели в целом, а для отдельных групп – 96,0% (таблица 79).

Мощность модели при комбинации 10 предикторов оказалась высокой (90,6%), при этом большее количество ошибочного прогноза (для 7 – из 50 пациентов) – 14% было сделано для больных с «агрессивным» течением пародонтита, а именно у пациентов из данной группы период после начальной терапии протекает неблагоприятно.

Т а б л и ц а 79 - Мощность модели дискриминации из 10 предикторов неблагоприятного течения пародонтита

Группы пациентов с различным течением пародонтита до инициации лечения	Процент корректной дискриминации на группы при использовании 10 предикторов	G_1	G_2	G_3
G_1 «агрессивное»(n=50)	86,0	43	5	2
G_2 «умеренно прогрессирующее» (n=50)	90,0	5	45	0
G_3 «медленно прогрессирующее» (n=50)	96,0	0	3	47
Total 150	90,6	48	53	49

Для показателей, имеющих числовое значение, были рассчитаны пороги отсечения, позволяющие корректно использовать такие характеристики пациентов как возраст, КП Фукса, индекс ПИ для прогноза неблагоприятного течения пародонтита после проведения базового курса терапии у больных с различным течением пародонтита, имеющих разную стадию болезни (легкая, средняя или тяжелая степень тяжести).

Так, для дискриминации пациентов с «агрессивным» и «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита «возраст» пациента 46 лет и старше является статистически значимым предиктором и может быть использован в модели прогноза и в 4,4 раза повышает вероятность, что пародонтит у данного

больного протекает как «умеренно прогрессирующий» процесс. При дискриминации больных с «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением в 3,22 раза более вероятно, что пациент старше 48 лет относится к группе с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита, чем с «медленно прогрессирующим». Для дискриминации больных с «агрессивным» и «медленно прогрессирующим» течением, данный показатель использовать нельзя (табл. 80).

Т а б л и ц а 80 - Пороги отсечения для предиктора «возраст» при дискриминации больных на группы по характеру течения пародонтита ()

Группы	Предиктор	Z statistic	P	Se, %	Sp, %	+LR	-LR
«умеренно прогрессирующее» и «агрессивное»	Возраст (≥ 46 лет)	7,199	0,0001	70,59	84,0	4,41	0,35
«медленно прогрессирующее» и «умеренно прогрессирующее»	Возраст (≥ 48 лет)	6,740	0,0001	80,39	75,00	3,22	0,26
«медленно прогрессирующее» и «агрессивное»	Возраст (≥ 44 лет)	0,800	0,42	34,62	88,00	2,88	0,74

Костный показатель Фукса может быть использован для дискриминации больных с учетом характера течения пародонтита (табл. 81). Показатель ниже 58% в 4 раза чаще определяется у больных с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита, чем с «медленно прогрессирующим».

Т а б л и ц а 81 - Пороги отсечения для значения КП Фукса при дискриминации больных на группы по характеру течения пародонтита ()

Группы	Предикто р	Z statistic	P	Se, %	Sp, %	+LR	-LR
«умеренно прогрессирующее» и «агрессивное»	КП Фукса ($\geq 51,6\%$)	2,282	0,004	64,71	68,00	2,02	0,52
«медленно прогрессирующее» и «умеренно прогрессирующее»	КП Фукса ($\geq 58,0\%$)	5,641	0,0001	68,63	82,69	3,97	0,38
«медленно прогрессирующее» и «агрессивное»	КП Фукса ($\geq 56,0\%$)	2,560	0,011	82,69	42,0	1,43	0,41

Пародонтальный индекс ПИ может дискриминировать пациентов с «медленно прогрессирующим» и «умеренно прогрессирующим», а также с «медленно прогрессирующим» и «агрессивным» течением пародонтита, но не позволяет разделить больных с «агрессивным» и «умеренно прогрессирующим» течением болезни. Наиболее важно для прогноза пародонтита правильно выделить больных с «агрессивным» течением болезни (таблица 82).

Т а б л и ц а 82 - Пороги отсечения для значения индекса ПИ при дискриминации больных на группы по характеру течения пародонтита ()

Группы	Предиктор	Z statistic	P	Se, %	Sp, %	+LR	-LR
«умеренно прогрессирующее» и «агрессивное»	ПИ (>6,1)	0,855	0,39	41,18	78,00	1,87	0,75
«медленно прогрессирующее» и «умеренно прогрессирующее»	ПИ (>5,5)	3,684	0,0002	54,90	84,00	3,43	0,54
«медленно прогрессирующее» и «агрессивное»	ПИ (>4,64)	3,591	0,0003	65,38	72,00	2,34	0,48

Для построения приемлемого варианта прогностической модели течения пародонтита могут быть использованы такие анамнестические и клинические данные, имеющие числовое выражение как возраст, костный показатель Фукса и значение пародонтального индекса (таблица 83)

Т а б л и ц а 83 - Числовые показатели обследования пациентов, которые могут быть включены в модели для прогнозирования течения пародонтита

G_1 «агрессивное» (n=50) / G_2 «умеренно прогрессирующее» (n=50)		G_1	G_2	G_1	G_2
Предикторы	p-level	Mean	Mean	Std.Dev	Std.Dev
Возраст	p < 0,001	42,88	51,02	7,88	10,32
КП Фукса %	p < 0,01	63,80	53,67	18,95	20,75
G_2 «умеренно прогрессирующее» (n=50) / G_3 «медленно прогрессирующее» (n=50)		G_2	G_3	G_2	G_3
Предикторы	p-level	Mean	Mean	Std.Dev	Std.Dev
Возраст	p < 0,001	51,02	47,23	10,32	11,30
ПИ 0-8	p < 0,005	5,31	4,25	1,64	1,48
КП Фукса %	p < 0,001	53,67	73,22	20,75	16,24
G_1 «агрессивное» (n=50) / G_3 «медленно прогрессирующее» (n=50)		G_1	G_3	G_1	G_3
Предикторы	p-level	Mean	Mean	Std.Dev	Std.Dev
Возраст	p > 0,05	42,88	47,23	7,88	11,30
КП Фукса %	p < 0,01	63,80	73,22	18,95	16,24
ПИ 0-8	p < 0,01	5,14	4,25	1,29	1,48

Следующим этапом в построении модели прогноза неблагоприятного течения пародонтита было предпринято удаление самых незначимых предикторов и оценка прогностической ценности новой модели. Так из первоначальной модели (10 предикторов) были удалены показатели: Глубина

пародонтального кармана в области моляров более 3,48 мм, КП Фукса менее 60,9 %, ПИ >4,64 балла, подвижность зубов более 0,92 балла (таблица 84).

Т а б л и ц а 84 - Уровень значимости показателей пациента в общей дискриминации при данном варианте комбинации из 6 предикторов неблагоприятного течения пародонтита (Модель 1)

№	Предиктор	Результаты дискриминантного анализа			
		Wilks'	Partial	Fremove	p-level
1	Гистологическое исследование степень выраженности воспалительного инфильтрата	0,30	0,42	99,14	0,00001
2	Аллель <i>IL-1RN* 2R</i>	0,17	0,74	25,34	0,00001
3	Генотип <i>IL-4 3R3R</i>	0,15	0,82	15,84	0,00001
4	Возраст больного	0,15	0,85	12,84	0,00001
5	Аллель <i>TNFα* -308A</i>	0,14	0,88	10,03	0,0001
6	Давность болезни более 5 лет	0,14	0,91	7,54	0,001

Для всех предикторов имеется статистически значимая роль в дискриминации, при $F(12,290) = 44,13$, $p < 0,0000$ для модели в целом.

При данной комбинации предикторов сохраняется высокая мощность корректной дискриминации (таблица 85). Но в группе с «агрессивным» течением пародонтита при данной комбинации предикторов (Модель 1) уровень корректной дискриминации снижается на 10%, по сравнению с предыдущим вариантом (Модель 0).

Т а б л и ц а 85 - Мощность модели дискриминации из 6 предикторов неблагоприятного течения пародонтита

Группы пациентов с различным течением пародонтита до инициации лечения	Процент корректной дискриминации на группы при использовании 6 предикторов	G_1	G_2	G_3
G_1 «агрессивное» (n=50)	76,0	38	8	4
G_2 «умеренно прогрессирующее» (n=50)	92,0	4	46	0
G_3 «медленно прогрессирующее» (n=50)	98,0	1	0	49
Total 150	88,7	41	54	55

Так как предполагается разработка оптимальной модели для прогноза пародонтита, использование полученной модели в широкой практике врачей – стоматологов, при этом учитывая, что гистологическое исследование фрагмента десны может оказаться не всегда доступным методом, и на этапе начального обследования пациента является инвазивным, требующим обезболивания, нами принято решение исключить данный показатель из модели прогноза (таблица 86).

Т а б л и ц а 86 - Уровень значимости показателей пациента в общей дискриминации при данном варианте комбинации из 5 предикторов неблагоприятного течения пародонтита, исключая результаты гистологического исследования (Модель 2)

№	Предиктор	Результаты дискриминантного анализа			
		Wilks'	Partial	Fremove	p-level
1	Аллель <i>IL-1RN* 2R</i>	0,40	0,74	25,05	0,00000
2	Аллель <i>TNFα* -308A</i>	0,35	0,82	15,84	0,0000
3	Генотип <i>IL-4 3R3R</i>	0,34	0,82	15,08	0,0000
4	Возраст больного	0,25	0,80	12,84	0,0000
5	Давность болезни более 5 лет	0,14	0,67	11,04	0,00003

Для всех предикторов имеется статистически значимая роль в дискриминации, наибольший вклад в дискриминацию вносят Аллель *IL-1RN* 2R* и Аллель *TNF α * -308A*. Для модели в целом $F(10,292)=24,43$, $p<0,0000$.

При использовании модели из 5 предикторов (Модель 2) для прогноза сохраняется достаточно высокая мощность (таблица 87). Но при этом важно, что для больных с «агрессивным» течением пародонтита уровень корректной дискриминации повысился до 84%, несмотря на некоторое снижение мощности данной модели в целом, по сравнению с моделью, включавшей гистологическое исследование.

Т а б л и ц а 87 - Мощность модели дискриминации из 5 предикторов неблагоприятного течения пародонтита, исключая результаты гистологического исследования

Группы пациентов с различным течением пародонтита до инициации лечения	Процент корректной дискриминации на группы при использовании 6 предикторов	G_1	G_2	G_3
G_1 «агрессивное» (n=50)	84,00	42	8	0
G_2 «умеренно прогрессирующее» (n=50)	76,00	6	38	6
G_3 «медленно прогрессирующее» (n=50)	88,00	0	6	44
Total 150	82,67	50	50	50

Графическое изображение моделей представлено на рисунках (рисунок 66 А, Б).

Центроиды групп на диаграмме рассеяния для канонических значений в Модели 1 дальше друг от друга, чем в Модели 2 (рисунок 66 А). Модель 1 позволяет хорошо дискриминировать пациентов группы 2 «умеренно прогрессирующее» и 3 «медленно прогрессирующее» течение пародонтита (красные и зеленые точки на диаграмме) и группы 1 «агрессивное» и 3 «медленно прогрессирующее» течение пародонтита (синие и зеленые точки на диаграмме). При этом на диаграмме рассеяния для канонических значений в Модели 2 (рисунок 66 Б) группа с «агрессивным» течением пародонтита (синие точки на диаграмме) расположены более компактно, несмотря на меньшее расхождение центроидов всех групп друг от друга.

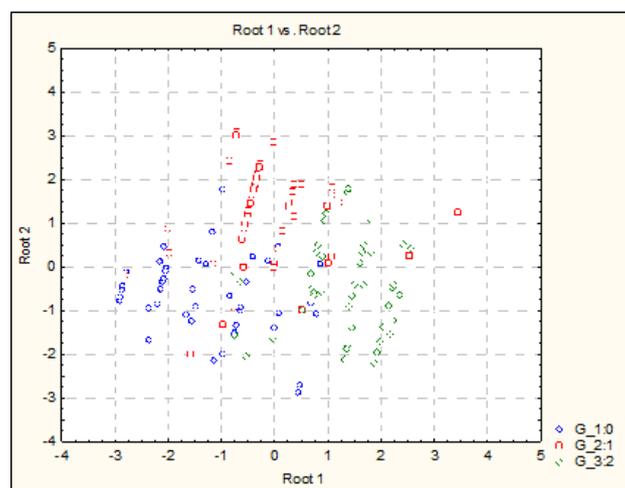
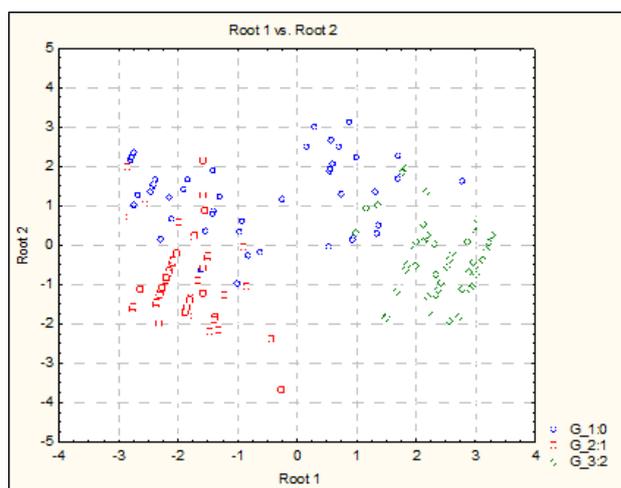


Рисунок 66 А - Диаграмма рассеяния для канонических значений Модели 1

Рисунок 66 Б - Диаграмма рассеяния для канонических значений Модели 2

Таким образом, максимальный вклад в дискриминацию больных хроническим генерализованным пародонтитом вносят результаты генетических тестов на наличие комбинаций полиморфных аллелей генов воспалительных цитокинов, отвечающих за реализацию иммунного ответа макроорганизма на бактериальную инфекцию.

Эффект воздействия цитокинов на орган – мишень, в нашем случае на эпителий слизистой оболочки десны зависит не только от степени его вовлечения в воспалительный процесс, но и определяется уровнем продукции цитокинов клетками воспалительного инфильтрата. Характер ответной реакции на пародонтопатогены может быть связан с носительством комбинаций полиморфных аллелей генов *IL-1 β* и *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4*, которые обуславливают базовый и индуцированный уровень продукции цитокинов. Конечным результатом этих процессов может быть возрастание агрессивных свойств воспалительного инфильтрата и при хронизации процесса воспаления — дисрегенераторными изменениями в слизистой оболочке десны, периодонтальной связке и более выраженным изменениям в альвеолярной кости.

ГЛАВА 5

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1 клинико-морфологические и молекулярно-генетические основы гетерогенности хронического пародонтита

Клиническую неоднородность заболевания по совокупной оценке изменений в тканях и выраженности клинических проявлений воспаления у больных представилось возможным ранжировать на три варианта течения болезни, которые условно обозначены нами как: «Агрессивное» течение, «Умеренно прогрессирующее» течение и «Медленно прогрессирующее» течение.

«Агрессивное» течение пародонтита у пациентов характеризовалось: быстрой (более 6% в год), неравномерной резорбцией опорной кости, наличием зон кости с нарушением замыкательных пластинок, тремя и более обострениями в году, которые сопровождались изменением общего состояния организма в сочетании с выраженными преимущественно умеренно клиническими проявлениями (кровоточивостью при чистке зубов, приеме грубой пищи, иногда самопроизвольной; выраженными умеренно такими клиническими проявлениями, как отек межзубных сосочков, гноетечение из пародонтальных карманов, боль, зуд в деснах), средний возраст пациентов составил $46,4 \pm 3,8$ лет.

«Умеренно прогрессирующее» течение пародонтита по выраженности основных клинических проявлений мало отличалось от «агрессивного» течения, однако резорбция опорной кости была умеренной (от 3% до 6% за год), отмечалось сочетание угловых и горизонтальных дефектов только в отдельных зонах челюстей, выявлялось поражение лишь отдельных фуркаций зубов, замыкательные пластинки кости чаще были сохранены. В среднем, фиксировалось два обострения в году, которые только иногда сопровождались изменением общего состояния организма. Средний возраст в данной группе больных составил $55,1 \pm 3,9$ лет.

«Медленно прогрессирующее» течение пародонтита характеризовалось наличием у пациентов слабых клинических проявлений в полости рта, в сочетании с медленной (до 3% за год) равномерной резорбцией опорной кости. Не отмечено более одного обострения в течение года, и протекало оно без изменения общего состояния организма. Средний возраст в данной группе больных составил $48,4 \pm 4,6$ лет.

При этом по данным индивидуального клинического обследования с использованием общепринятой индексной оценки состояния полости рта и тканей пародонта до лечения все пациенты имели неудовлетворительный и плохой уровень гигиенического состояния рта ($3,3 \pm 1,12$ у больных с «агрессивным» течением, $3,37 \pm 1,11$ у больных с «умеренно прогрессирующим» течением и $3,24 \pm 0,84$ у больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита; $p > 0,05$). Значения индекса кровоточивости у всех больных свидетельствовали об активном течении болезни ($2,76 \pm 0,82$ у больных с «агрессивным» течением; $2,64 \pm 0,61$ у больных с «умеренно прогрессирующим» течением; $2,49 \pm 0,79$ у больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита, $p > 0,05$). Также отмечены высокие значения индекса ПМА у всех больных: в группе с «агрессивным» течением - $66,01 \pm 6,12$ у больных с «умеренно прогрессирующим» течением - $64,92 \pm 8,1$ и $57,7 \pm 6,37$ у лиц с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита. Хотя значение данного показателя у лиц с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита было статистически значимо ниже, по сравнению с первыми двумя группами ($p < 0,05$), оно соответствовало выраженной интенсивности и распространенности воспаления в изучаемых тканях. Показатели, отражающие уровень деструкции тканей пародонта (КП Fuchs, глубина пародонтальных карманов, патологическая подвижность зубов) у пациентов с «медленно прогрессирующим» течением болезни были также статистически значимо ниже, чем в других группах (костный показатель Fuchs: $58,61 \pm 7,2$; $56,13 \pm 10,33$ и $71,39 \pm 9,65$ - соответственно у лиц с «агрессивным», «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением болезни,

$p < 0,01$. Глубина пародонтальных карманов: $4,5 \pm 1,12$; $4,35 \pm 1,16$; $3,61 \pm 0,92$ - соответственно у лиц с «агрессивным», «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением болезни, $p < 0,05$. Патологическая подвижность зубов: $1,82 \pm 0,4$; $1,38 \pm 0,5$; $1,1 \pm 0,2$ - соответственно у лиц с «агрессивным», «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением болезни, $p < 0,05$). Общепринятым в настоящее время является мнение о том, что симптомы, проявляющиеся из-за нарушений на уровне сосудистого русла (изменения цвета десны, отек десны, кровоточивость) вследствие влияния огромного количества медиаторов и модуляторов воспаления при контакте продуктов жизнедеятельности бактерий биопленки и тканей пародонта, приводящих к развитию гиперемии тканей, отеку, гипоксии тканей формированию клеточного инфильтрата и выделению целого спектра цитокинов, оказываются характерными для всех форм воспалительных заболеваний пародонта, подтверждают наличие патологии, но существенной ценности для дифференциальной диагностики характера течения воспаления не имеют, технически не очень совершенны и, часто, субъективны. Выделение степени тяжести, согласно принятой клинической классификации важно, но интенсивность и тяжесть воспаления может меняться от зуба к зубу и может быть неодинаковой на различных поверхностях зуба, как многокорневого, так и однокорневого, все это диктует необходимость поиска усовершенствования диагностического и прогностического процессов за счет использования надежных объективных методов исследования и методов анализа большого количества данных, получаемых при обследовании больных с патологией пародонта [10, 22, 39, 41, 44, 54, 57, 60, 65, 82, 101, 103, 117, 120].

При сборе анамнеза врач получает большое количество данных о пациенте и анализирует изменяемые и неизменяемые факторы риска пародонтита. К системным факторам организма, увеличивающим риск развития и прогрессирования заболевания пародонта, относят системные

заболевания, курение, стресс, прием лекарств и др. Имеются многочисленные литературные данные, свидетельствующие о взаимосвязи воспалительных поражений пародонта с заболеванием желудочно-кишечного тракта, сердечнососудистой, эндокринной и других систем организма [57, 85, 104, 120, 138]. Согласно полученным в нашем исследовании данным, пациентов выявлены хронические заболевания респираторных органов (хронический верхнечелюстной синусит, хронический тонзиллит, хронические обструктивные болезни легких, частые острые вирусные респираторные заболевания), которые сочетались с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, сердечнососудистой системы, аллергическими проявлениями, часто у больных выявлялось сочетание поражений двух, трех и более систем организма. В среднем, в группе обследованных лиц, около 11% пациентов имели поражение желудочно-кишечного тракта, четверть пациентов – хронические заболевания респираторных органов и у половины (48,6%) больных пародонтитом отмечалось сочетание поражений 2-х, 3-х и более систем организма при среднем и тяжелом поражении тканей пародонта. Многие исследователи объясняют такое развитие патологического процесса генетически детерминированной реактивностью организма на неблагоприятные воздействия среды, считают её определяющей в формировании фенотипической реактивности, проявляющейся повышенным содержанием медиаторов воспаления не по причине чрезмерного воздействия этиологического фактора, а в связи с молекулярными особенностями, возможно – дефектами данного организма [15, 20, 36, 37, 43, 63, 91, 101, 102, 103, 121, 130, 134, 304, 316, 322]. За последние годы появилось достаточное количество исследований, свидетельствующих о важной роли цитокинов врожденного и приобретенного иммунитета в формировании защиты организма при инфекционных заболеваниях, а также связи уровня продукции иммунорегуляторных пептидов с клиническими проявлениями [50, 51, 95, 112, 140, 231, 366, 387]. Также накопилось большое количество данных о влиянии функционального полиморфизма генов регуляторных молекул на характер

воспаления, возможностях прогнозирования течения инфекционного заболевания и оценки эффекта терапии [42, 52, 56, 108, 113, 120]. В нашем исследовании при определении полиморфных аллелей генов ключевых воспалительных цитокинов у больных пародонтитом по сравнению с группой условно здоровых доноров также были получены различия, в группе больных пародонтитом статистически значимо чаще встречались аллели $-511T$ ($\chi^2=9,63$; $p<0,003$), $+3953T$ ($\chi^2=14,61$; $p<0,001$) гена $IL-1\beta$, $3R$ ($VNTR$ интрон 3) гена $IL-4$ ($\chi^2=4,191$; $p<0,041$) и генотипы C/T и T/T в промоторной области в позиции (-511) ($\chi^2=16,528$; $p<0,0001$) и в 5 экзоне в позиции $(+3953)$ ($\chi^2=18,275$; $p<0,001$) гена $IL-1\beta$, генотипы $2R/2R$ и $2R/4R$ ($VNTR$ интрон 2) ($\chi^2=6,703$; $p<0,035$) гена $IL-1RN$; и генотип $3R/3R$ ($VNTR$ интрон 3) ($\chi^2=13,626$; $p<0,001$) гена $IL-4$. При этом для понимания наличия или отсутствия ассоциаций полиморфных аллелей и генотипов с особенностями течения болезни был проведен анализ распределения их частот внутри группы больных и были выявлены следующие взаимосвязи с вариантом течения пародонтита. Комбинации полиморфных аллелей генов $IL-1\beta$, $IL-1RN$, $TNF\alpha$, $IL-4$, ассоциированные с типом течения пародонтита, распределились таким образом, что вполне обосновали наше предположение о связи между «агрессивностью» течения пародонтита и генетически обусловленной высокой продукцией воспалительных цитокинов. В группе пациентов с «агрессивным» течением пародонтита достоверно чаще встречались носители аллелей $-511T$ гена $IL-1\beta$, $2R$ гена $IL-1RN$ ($VNTR$ интрон 2), $-308A$ гена $TNF\alpha$. В группе с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита доминировали носители аллеля $+3953T$ гена $IL-1\beta$. В группе пациентов с «агрессивным» и «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита статистически значимо чаще, чем в группе с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита определялись носители биаллельного полиморфизма в позициях $-511T$ и $+3953T$ гена $IL-1\beta$ с которыми связано повышение продукции цитокинов в ходе реализации воспаления. У больных с «медленно

прогрессирующим» течением пародонтита отмечено наименьшее количество носителей полиморфных аллелей $-511T$ и $+3953T$ гена $IL-1\beta$, $2R$ гена $IL-1RN$ ($VNTR$ интрон 2), $3R$ гена $IL-4$ ($VNTR$ интрон 3). По данным литературы, носительство аллелей $-511T$, $+3953T$ гена $IL-1\beta$ определяют повышенную в 2-4 раза выработку $IL-1\beta$ [161, 197, 393, 394]. Подобные данные имеются и для генов $TNF\alpha$, $IL-4$, хотя обнаруженные мутации физиологически проявляются не всегда, имеются и популяционные отличия [82, 186, 208, 240, 259, 328, 471]. При сравнении содержания изученных цитокинов $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-4$ в сыворотке крови больных пародонтитом действительно отмечались статистически значимо более высокие значения всех исследованных цитокинов, хотя определялась значительная вариабельность уровней цитокинов и в крови больных, и в крови доноров. В нашем исследовании уровень $IL-1\beta$ в сыворотке крови больных пародонтитом в 3,2 раза превышал уровень $IL-1\beta$ в сыворотке крови лиц из группы сравнения. Зафиксировано превышение уровня $TNF\alpha$ в сыворотке крови больных пародонтитом по сравнению с уровнем данного цитокина у лиц из группы сравнения в 3,3 раза, а превышение уровня $IL-4$ достигало 2,6 раза. Все эти данные вполне согласуются с данными, полученными другими исследователями и объясняют выраженное повреждение различных тканей и клеток при воспалении.

Но при сравнении уровня цитокинов в сыворотке крови в группах у больных с выделенными нами типами клинического течения болезни статистически значимых различий (по критерию Манна – Уитни) не установлено. Корреляционный анализ позволил выявить взаимосвязи между продукцией уровня различных цитокинов в пределах одной клинической группы. Так, между уровнем $IL-1\beta$ в сыворотке крови и уровнем $IL-4$ отмечена прямая средняя корреляционная связь ($r=0,52$ $t(N-2) = 3,37$, $p<0,002$). Можно предположить, что повышенная выработка $IL-1\beta$, связанная с носительством полиморфных аллелей гена $IL-1\beta$ или с носительством короткого аллеля $2R$ $IL-1RN$ ($VNTR$ интрон 2) сопровождается повышенной выработкой и $IL-4$ в ходе реализации воспаления. Многие известные цитокины демонстрируют

идентичность биологических эффектов и могут компенсировать собой недостаток других медиаторов воспаления [16, 68, 85, 441]. Также системная вариабельность уровня цитокинов может быть связана с коротким периодом жизни и гетерогенным распределением в организме цитокинов, особенно с учетом наличия других очагов хронического воспаления, кроме воспаления в тканях пародонта. Широкая вариация показателей снижает ценность определения уровня цитокинов как активности патологии или ответа на терапию пародонтита, поэтому, оценка системного уровня продукции цитокинов у больных пародонтитом, на наш взгляд, мало информативна, не отражает реального спектра экспрессии цитокинов непосредственно в очаге воспалительного процесса.

Нарастивание уровня изучаемых цитокинов в сыворотке крови проявляется воздействием на мишени непосредственно в тканях пародонта и обуславливает особенности гистопатологической картины [71, 80, 210, 212, 292, 335, 411, 432]. Важнейшие свойства IL-1 - стимуляция пролиферации преактивированных антигеном зрелых Т-лимфоцитов, увеличение продукции IL-2, IL-4, TNF α , стимуляция фагоцитоза – хорошо известны [29, 126, 324]. Основными клетками-продуцентами IL-1, TNF α , IL-4 в организме являются моноциты/макрофаги, а также Т- и В- лимфоциты, нейтрофильные лейкоциты, клетки эндотелия. Имеются данные, что уровень IL-1 β коррелирует с плотностью расположения макрофагов и лимфоцитов в воспалительных инфильтратах [190, 325, 475]. Основными клетками мишенями для IL-4 служат В-лимфоциты, для которых он является самым сильным ростовым фактором. Значительное количество исследований свидетельствует, что при гиперпродукции IL-4 у больных выявляются нарушения продукции иммуноглобулинов, лизоцима, показателей оксидативного взрыва фагоцитирующих клеток [145, 310, 425, 462]. Согласно некоторым исследованиям полиморфизм гена IL-4 ассоциирован с повышенной активностью гена [23, 35, 179, 309, 311, 315]. Очевидна необходимость

детального анализа реализации воспаления у больных пародонтитом с разными клиническими проявлениями и разными генетическими характеристиками на структурном уровне, то есть в органе – «мишени» - слизистой оболочке десны с оценкой клеток воспалительного инфильтрата, которые являются непосредственным источником и/или мишенью для цитокинов, а также популяции эпителиальных клеток, реагирующих опосредованно.

И следующим этапом нашего исследования было изучение ассоциации вариантов клинического течения и особенностей гистопатологии слизистой оболочки десны у больных хроническим генерализованным пародонтитом. Биоптаты слизистой оболочки десны всех групп больных пародонтитом характеризовались расширением эпителиального компартмента с гиперплазией клеток шиповатого слоя и формированием акантоза. Эпителиальный компартмент слизистой оболочки десны является мишенью для ряда цитокинов (IL-1 β , TNF α , IL-6) и факторов роста, которые влияют на пролиферацию, дифференцировку и функционирование эпителиальных клеток и под воздействием микробных антигенов и протеаз способствует активации и привлечению нейтрофильных лейкоцитов и Т- лимфоцитов [408].

И действительно, в шиповатом слое многослойного плоского эпителия десны часто встречались нейтрофильные лейкоциты, отмечали явления отека соединительной ткани, выраженное полнокровие кровеносных капилляров, встречались участки формирования грануляционной ткани. В собственной пластинке слизистой оболочке десны пациентов с «агрессивным» течением пародонтита определялся плотный мононуклеарный инфильтрат, с формированием подобия лимфоидных фолликулов, иммунофенотип клеток представлен CD8+, CD4+, CD45RO+, CD20+, CD68+ и межэпителиальными мононуклеарными лимфоцитами, экспрессирующими CD8+, CD45RO+, в 1 мм² среза 52,0 \pm 9,44; 112,24 \pm 10,22; 52,31 \pm 4,42; 58,62 \pm 8,26; 46,71 \pm 5,16 - соответственно. Высокая экспрессия маркера пролиферации Ki-67

обнаружена в клетках воспалительного инфильтрата ($13,36 \pm 3,11$ в 1 мм^2 среза) и в клетках многослойного плоского эпителия как базального, так и супрабазального слоев с доминированием меченых клеток в акантотических тяжах ($30,42 \pm 4,3$ в 1 мм^2 среза). Ядерная метка P53 визуализировалась преимущественно в клетках пролиферативной зоны многослойного плоского эпителия десны ($28,71 \pm 5,2$ меченых клеток в 1 мм^2 среза).

В биоптатах слизистой оболочки десны у больных с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита достоверно реже, чем у больных с «агрессивным» течением, отмечалось наличие выраженной, а чаще встречалась умеренная и даже слабой степени воспалительная инфильтрация. Хотя были отмечены биоптаты с выраженной инфильтрацией нейтрофильными лейкоцитами, биоптаты слизистой оболочки десны больных данной группы характеризовались меньшим количеством на 1 мм^2 среза по сравнению с биоптатами больных с «агрессивным» течением иммунокомпетентных клеток с фенотипом CD8+, CD4+, CD45RO+, CD20+ и межэпителиальных лимфоцитов, кроме CD68 позитивных макрофагов ($41,98 \pm 9,58$; $83,74 \pm 9,88$; $34,0 \pm 3,87$; $44,25 \pm 8,28$; $p < 0,05$; $41,28 \pm 5,22$; $p > 0,05$ для CD68 – соответственно) Отмечается статистически значимо меньшее количество клеток воспалительного инфильтрата на 1 мм^2 среза с меткой Ki67, по сравнению с предыдущей группой ($8,48 \pm 2,65$; $p < 0,05$). Уровень экспрессии и распределение маркера пролиферации Ki-67 и метки P53 ($30,27 \pm 4,2$ и $27,26 \pm 6,1$ – соответственно) в клетках многослойного плоского эпителия не отличались от аналогичных показателей в биоптатах больных с «агрессивным» течением пародонтита.

Для больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита в большинстве случаев в биоптатах слизистой оболочки десны встречались лимфо-макрофагальные воспалительные инфильтраты обычно слабой степени в сочетании с умеренной и слабой инфильтрацией нейтрофильными лейкоцитами эпителиального компартмента слизистой оболочки десны. В биоптатах больных данной группы в 1 мм^2 среза было наименьшее количество

иммунокомпетентных клеток с фенотипом CD8+, CD4+, CD45RO+, CD20+, CD68+ и межэпителиальных лимфоцитов, по сравнению с предыдущими группами (25,51±6,23; 42,36±9,11; 19,6±3,29; 26,43±7,14; 29,12±3,61 – соответственно; $p<0,05$). [28, 128, 358, 477].

При иммуногистохимическом исследовании клеточного обновления в биоптатах больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита в 1 мм² среза установлен самый низкий уровень экспрессии Ki67 (4,51±1,94; $p<0,05$) в клетках воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны. Уровень экспрессии и распределение маркера пролиферации Ki-67 и метки P53 (28,65±3,4 и 27,01±4,8 - соответственно) в клетках многослойного плоского эпителия не отличались от аналогичных показателей в биоптатах больных с «агрессивным» и «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита.

При оценке распределения субтипов Т-клеток в слизистой оболочке десны в биоптатах всех пациентов установлено, что CD4-позитивные Т-клетки локализовались преимущественно в очагах скопления лимфоцитов, особенно на границе эпителия и собственной пластинки слизистой оболочки десны.

CD8 позитивные лимфоциты располагались интраэпителиально, их локализация совпадала с участками деструкции эпителиального пласта, CD8 лимфоцитов было много и среди клеток воспалительного инфильтрата собственной пластинке слизистой оболочки десны.

CD45RO Т лимфоциты локализовались в эпителиальном компартменте десны и среди клеток воспалительного инфильтрата субэпителиально.

На фоне диффузного распределения CD20 позитивных лимфоцитов в плотном мононуклеарном воспалительном инфильтрате определялись скопления CD20 позитивных клеток в виде лимфоидных фолликулов преимущественно в биоптатах больных с «агрессивным» течением пародонтита.

Общеизвестным фактом является то, что основой патологических изменений при пародонтите является воспалительный клеточный инфильтрат

в слизистой оболочке десны. В литературе имеются данные о наличии двух групп воспалительных инфильтратов, по мнению авторов различающихся в зависимости от активности воспалительного процесса, при не очень высокой активности преобладают малые лимфоциты, при чем малые лимфоциты могут оказаться и Т-клонами и В-клонами ввиду сложности при оценке гистологических препаратов, а при возрастании активности процесса объем большая часть популяции В-клеток преобразуется в плазматические клетки и авторы отмечают низкую плотность нейтрофильных лейкоцитов в данном типе инфильтратов по сравнению с инфильтратами, содержащими небольшое количество плазматических клеток [290]. Так же есть сведения, что десятикратное возрастание содержания в инфильтратах плазматических клеток авторы расценивали как характерную особенность прогрессирования пародонтита [96]. При этом крайне мало данных о наличии лимфоидных фолликулов в тканях десны при воспалительных изменениях в сравнении с достаточным количеством данных о формировании лимфоидных фолликулов в слизистых оболочках других органов при хронических воспалительных процессах [28]. Результаты нашего исследования полностью согласуются с данными исследования, в котором авторы считают такие различия численности плазмоцитов в лейкоцитарных инфильтратах не последовательными стадиями развития или инволюции инфильтратов, а разными по выраженности проявлениями воспалительного процесса в тканях десны. Так при агрессивных ювенильных процессах в пародонте более половины клеток в инфильтратах – плазмоциты, многие авторы считают, что плазмоклеточные инфильтраты высокой плотности свидетельствует о невозможности полноценно элиминировать бактерии, о предрасположенности к более тяжелому течению процесса и выраженной деструкции кости [188, 438, 451, 452]. Известно, что классические лимфоидные фолликулы имеют круглую форму и светлые центры, но слизистая оболочка десны имеет незначительный объем и, вероятно, происходит образование структур вытянутой или неправильной формы из-за деформации в следствие отсутствия

подслизистой основы, ограничения костными образованиями, склеротическими процессами в десне в результате чередующихся обострений и ремиссии процесса воспаления. В нашем исследовании в слизистой оболочке десны мы определили такие образования как структуры напоминающие лимфоидные фолликулы и отметили, что они явились характерной особенностью в биоптатах больных с «агрессивным» течением пародонтита. Показано, что стимуляция В-клеточного звена у больных пародонтитом сопровождается накоплением плазматических клеток, но не возникает эффективного гуморального ответа, хотя происходит активный синтез провоспалительных цитокинов IL-1 β и одновременно усиленный синтез IL-4. В эксперименте на культуре ткани наблюдали одновременно повышенный синтез IL-1 β , IL-2 и IL-4 десневыми мононуклеарными клетками под действием мембранного белка от *Porphyromonas gingivalis* [11, 156, 389, 430, 458].

Также в собственной пластинке слизистой оболочки десны биоптатов всех групп обнаруживалось большое количество CD68 позитивных мононуклеарных фагоцитов, которые являются одним из главных источников цитокинов. [284, 405].

Обнаружено достаточно большое количество эпителиоцитов с меткой P53, что свидетельствует об интенсивном повреждении ДНК клеток пародонтопатогенами. Отмеченный во всех биоптатах высокий уровень пролиферации (метка Ki-67) в эпителиальном компартменте слизистой оболочки десны, вероятно, обусловлен синтезом клетками воспалительного инфильтрата собственной пластинки слизистой оболочки десны широкого спектра провоспалительных цитокинов, которые обладают пролиферативной активностью в отношении эпителиоцитов [58, 74, 129]. Экспрессия Ki-67 выявлялась в клетках воспалительного инфильтрата, хотя точно идентифицировать пролиферирующие клетки мононуклеарного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны невозможно, поскольку в

гистологических препаратах моноцит, лимфоцит и молодой фибробласт почти идентичны [23, 28].

Таким образом реактивные изменения в тканях пародонта можно считать стереотипными, но при этом отмечаются некоторые особенности как в количестве иммунокомпетентных клеток так и в формировании структур, напоминающих лимфоидные фолликулы, характерные для лиц с неодинаковыми клиническими проявлениями болезни. Поскольку мы предположили, что характер воспалительного ответа может определяться совместным носительством высоко- и/или низко-продуцирующих вариантов генов воспалительных цитокинов, нами была изучена и проанализирована ассоциация структурных изменений в слизистой оболочке десны больных хроническим пародонтитом с полиморфизмом генов воспалительных цитокинов.

Анализ ассоциации структурных изменений в слизистой оболочке десны больных пародонтитом с полиморфизмом генов воспалительных цитокинов позволил выявить следующие закономерности: у носителей генотипа *C/C* гена *IL-1β* (*C -511 T*) отмечалось наличие воспалительного инфильтрата слабой степени (в 50% случаев по степени инфильтрации мононуклеарными клетками и в 59% случаев по степени инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами ($\chi^2=12,125$; $p<0,002$ и $\chi^2=28,685$; $p<0,0001$ - соответственно)). Выраженный мононуклеарный инфильтрат в собственной пластинке слизистой оболочки десны и выраженная степень инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами более чем вдвое чаще определялся у носителей аллеля *T* гена *IL-1β* (*C -511 T*), у носителей аллеля *C* гена *IL-1β* (*C -511 T*) статистически значимо чаще выявлялась слабая и умеренная степень инфильтрации мононуклеарными клетками и нейтрофильными лейкоцитами ($\chi^2=7,380$; $p<0,007$), что позволяет говорить об ассоциации аллеля *T* с более выраженными воспалительными изменениями в слизистой оболочке десны.

При анализе генотипов полиморфного локуса (*C +3953 T*) гена *IL-1β* обнаружено, что достоверно чаще у больных с выраженной степенью

инфильтрации мононуклеарными клетками и нейтрофильными лейкоцитами определялись генотипы *C/T* и *T/T*, при слабой степени выраженности воспалительных изменений в слизистой оболочке десны статистически значимо чаще встречался генотип *C/C* гена *IL-1β* (*C +3953 T*) ($\chi^2=26,704$; $p<0,001$ и $\chi^2=34,860$; $p<0,001$ – соответственно). Так же при оценке распределения полиморфных аллелей *IL-1β* (*C +3953 T*) статистически значимо чаще определялся аллель *T* в случае выявления выраженной степени воспалительного инфильтрата и аллель *C* гена *IL-1β* (*C +3953 T*) при наличии слабой и умеренной степени воспалительной инфильтрации. Это позволяет констатировать ассоциацию аллеля *T* гена *IL-1β* (*C +3953 T*) с более выраженным проявлением воспаления в слизистой оболочке десны соответственно $\chi^2=30,099$; $p<0,001$ и $\chi^2=33,212$; $p<0,001$.

В то же время не было выявлено ассоциаций генотипов и аллелей полиморфного локуса гена *IL-1RN* (*VNTR интрон 2*) с интенсивностью воспалительного ответа ($\chi^2= 4,292$; $\sqrt{1}$; $p>0,05$).

При анализе распределения генотипов и аллелей полиморфного локуса гена *TNFα* (*G -308 A*) у пациентов с различной степенью выраженности воспалительных изменений в слизистой оболочке десны установлено, что генотипы *G/A*, *A/A* и аллель *A* статистически значимо чаще обнаруживались при выраженной степени инфильтрации компартментов десны иммунокомпетентными клетками *CD45RO+*, *CD68+*, *CD8+* по сравнению с генотипом *G/G* и аллелем *G* ($\chi^2=34,971$; $p<0,001$ и $\chi^2=28,037$; $p<0,001$ – соответственно). Преобладание в воспалительном инфильтрате Т-лимфоцитов памяти, макрофагов и цитотоксических лимфоцитов позволяет считать аллель *A* гена *TNFα* (*G -308 A*) ассоциированным с формированием устойчивых межклеточных взаимодействий и персистенции воспаления в слизистой оболочке десны при пародонтите.

При анализе распределения генотипов *3R/3R*, *3R/2R*, *2R/2R* и аллелей *3R* и *2R* полиморфного локуса гена *IL-4* (*интрон 3*) обнаружено, что у больных с

выраженной степенью воспалительных изменений слизистой оболочки десны чаще определялись генотип $3R/3R$ ($\chi^2=12,278$; $p<0,002$) и аллель $3R$ ($\chi^2=9,121$; $p<0,003$). Слабая степень воспалительных изменений в 100% случаев определялась у носителей генотипа $2R/2R$ и у половины носителей генотипа $3R/2R$ ($\chi^2=17,754$; $p<0,001$ и $\chi^2=13,491$; $p<0,001$ – соответственно). У больных с умеренной степенью воспаления слизистой оболочки десны в 33% случаев определялся генотип $3R/3R$ и в 41% случаев - $3R/2R$ гена *IL-4* (интрон 3).

У носителей аллелей *T* гена *IL-1 β* (*C -511 T*), *T* гена *IL-1 β* (*C +3953 T*), *A* гена *TNFA* (*G -308 A*) и $3R$ гена *IL-4* (интрон 3) в клеточном инфильтрате нарастает количество клеток с фенотипом CD8+, CD4+, CD45RO+, CD20+, CD68+, количество межэпителиальных лимфоцитов в сочетании с выраженной инфильтрацией нейтрофильными лейкоцитами. Можно предположить, что большее количество клеток, которые являются мишенями и источником базальной и индуцированной выработки интерлейкинов, определяют выраженные деструктивные процессы в слизистой оболочке десны и опосредованно индукцию дифференцировки и активности остеокластов, следовательно, и резорбцию костной ткани.

При сопоставлении данных клинического, молекулярно-генетического и морфологического исследований проведенных до начала лечения у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом выявлены особенности, обусловленные структурными изменениями в слизистой оболочке десны. Так, в группе больных с «агрессивным» течением пародонтита выраженные воспалительные изменения в слизистой оболочке десны отмечены в 76% случаев, в остальных 24% - имелись умеренные воспалительные изменения. В группе с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита выраженные воспалительные изменения выявлены в 48% случаев, а в 42% и 10% - определялись соответственно - умеренные и слабые воспалительные изменения. И даже у лиц с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита в 10% случаев имели место

выраженные воспалительные изменения в 42% - умеренные, в 48% - слабые воспалительные изменения.

Для понимания, чем определяется реагирование системы на тканевом, клеточном уровнях, и насколько стабильны межклеточные взаимоотношения, возникшие при взаимодействии «инфект - хозяин», отражающие генетический контроль реакции воспаления, нами предпринято проспективное исследование: проведена оценка клинических и морфологических изменений в слизистой оболочке десны под влиянием терапии, а также через 12 месяцев после окончания терапии.

Проведением базового курса терапии были купированы клинические признаки активного воспаления в тканях пародонта, что сопровождалось улучшением состояния полости рта пациентов, отсутствием жалоб, связанных с выраженностью воспаления и подтверждалось значениями индексов кровоточивости (с 2,84 до 0,93 ($p < 0,001$); с 2,86 до 0,21 ($p < 0,001$); с 2,79 до 0,1 ($p < 0,001$)) соответственно у больных с «агрессивным», «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением пародонтита) и ПМА (с 66% до 11,6% ($p < 0,001$); с 65,9% до 4,1% ($p < 0,001$); с 57,7% до 2,1% ($p < 0,001$)) соответственно у больных с «агрессивным», «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением пародонтита). При этом значения индекса кровоточивости и ПМА через 1 месяц после начала терапии у больных с «агрессивным» и «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита статистически значимо превышали аналогичные показатели больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита.

По окончании базовой терапии в группе с «агрессивным» течением пародонтита значения индекса кровоточивости и ПМА достоверно превышали аналогичные показатели больных и с «умеренно прогрессирующим» и с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита. При оценке состояния биотопа полости рта установлено, что степень дисбиоза статистически значимо снизилась у всех больных ($\chi^2 = 15,026$; $p < 0,001$).

При оценке структурных изменений в слизистой оболочке десны, произошедших под влиянием базового курса лечения (через 3 месяца) отмечали снижение плотности лимфо-макрофагального инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны, уменьшение, в ряде случаев – отсутствие инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами, и тенденцию к восстановлению показателей клеточного обновления эпителия.

Максимальный эффект терапии с позиции нормализации структуры десны был достигнут у пациентов с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита, в биоптатах слизистой оболочки десны которых через месяц после начала лечения статистически значимо уменьшились популяции всех изучаемых клеточных линий воспалительного инфильтрата CD4+, CD8+, CD20+, CD45RO+, CD68+ и Ki67+ клетки воспалительного инфильтрата ($U=3,803$, $p<0,001$; $U=3,236$, $p<0,001$; $U=2,891$, $p=0,004$; $U=3,660$, $p<0,001$; $U=2,276$, $p<0,023$; $U=3,777$, $p<0,001$ - соответственно). Через 1 месяц после начала лечения в 16 (32%) биоптатах, через 3 месяца в 8 (16%) биоптатах определялись нейтрофильные лейкоциты в минимальных количествах.

Изменялись морфометрические показатели клеточного обновления эпителия слизистой оболочки десны: снижение объемной плотности эпителиальных тяжей с $0,71\pm 0,08$ до $0,52\pm 0,06$ ($p<0,05$), уменьшение в 1 мм^2 Ki-67+ эпителиоцитов с $30,65\pm 3,4$ до $19,40\pm 3,7$ ($p<0,05$) и P53+ эпителиоцитов с $28,01\pm 4,8$ до $21,67\pm 5,1$ ($p<0,05$), что свидетельствовало об уменьшении акантоза эпителия и тенденции к нормализации гистиоархитектоники десны.

У больных с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита через месяц после начала лечения отмечено статистически значимое уменьшение популяции CD4+ ($U=4,147$, $p<0,001$), CD45RO+ ($U=4,249$, $p<0,001$) Т лимфоцитов и Ki67+ ($U=2,155$, $p<0,031$) клеток воспалительного инфильтрата в компартаментах слизистой оболочки десны. Только к окончанию лечения (3 месяца) отмечалось существенное уменьшение популяции клеток воспалительного инфильтрата с последующей редукцией воспалительного инфильтрата. Через месяц после начала лечения в 23 (46%)

биоптатах, через 3 месяца в 12 (24%) биоптатах определялись нейтрофильные лейкоциты в минимальных количествах.

При оценке морфометрических показателей обновления клеточной популяции в эпителии слизистой оболочки десны под влиянием противомикробного лечения у лиц с «умеренно прогрессирующим» течением болезни установлено статистически значимое снижение объемной плотности эпителиальных тяжей с $0,74 \pm 0,06$ до $0,59 \pm 0,09$ ($p < 0,05$), уменьшение на 1 мм^2 Ki-67+ эпителиоцитов с $30,97 \pm 4,2$ до $22,27 \pm 5,1$ ($p < 0,05$) и P53+ эпителиоцитов с $28,71 \pm 5,2$ до $23,19 \pm 4,3$ ($p < 0,05$) вплоть до полного исчезновения акантотических тяжей в некоторых биоптатах.

В биоптатах больных с «агрессивным» течением болезни, в отличие от предыдущих двух групп пациентов, через 3 месяца отмечалось статистически значимое снижение популяции клеток с фенотипом CD4+ и CD20+ ($U=3,100$, $p < 0,002$ и $U=2,032$, $p < 0,042$ – соответственно). При этом в собственной пластинке слизистой оболочки десны соотношение CD4+/CD8+ лимфоцитов уменьшалось, что расценивается как неблагоприятный признак [453]. Воспалительный инфильтрат сохранялся в собственной пластинке слизистой оболочки десны, где был представлен популяциями CD68+ макрофагов и CD45RO+ Т лимфоцитов памяти – свидетельство возможности локальной активации хронизации воспаления [182, 204, 419] и популяциями CD8+ и CD45RO+ Т лимфоцитов в эпителиальном компартменте слизистой оболочки десны. Интраэпителиальные CD8+ лимфоциты, стимулируя FasL-опосредованный апоптоз эпителия, несут разрушительный потенциал для эпителиального пласта [175, 177, 498]. Через месяц после начала лечения в 24 (48%) биоптатах, через 3 месяца в 18 (36%) биоптатах продолжали определяться нейтрофильные лейкоциты – свидетельство активности воспалительного процесса в десне.

Морфометрические показатели клеточного обновления эпителия слизистой оболочки десны на фоне противомикробного лечения у пациентов данной группы не изменялись: объемная плотность эпителиальных тяжей до

лечения - $0,72 \pm 0,07$ через 3 месяца - $0,69 \pm 0,06$ ($p > 0,05$), количество на 1 мм^2 Ki-67+ эпителиоцитов до лечения - $30,42 \pm 4,3$ через 3 месяца - $29,31 \pm 3,7$ ($p > 0,05$) и количество P53+ эпителиоцитов до лечения - $27,26 \pm 6,1$ через 3 месяца - $26,09 \pm 5,7$ ($p > 0,05$ при использовании критерия Крускала-Уоллиса). Метка Ki67 сохранялась в клетках многослойного плоского эпителия как базального, так и супрабазального слоев. Ядерная метка P53 визуализировалась также в клетках пролиферативной зоны многослойного плоского эпителия, то есть в эпителиальном компартменте сохранялось достаточное количество эпителиоцитов с поврежденной ДНК, а снижения темпов клеточной пролиферации (метка Ki67) не зафиксировано. Клеточный инфильтрат в биоптатах пациентов данной группы был ассоциирован с выраженностью акантоза. Косвенным подтверждением влияния цитокинов воспалительного инфильтрата на пролиферацию эпителия десны являются данные о средней положительной корреляционной связи между числом пролиферирующих клеток (метка Ki67), клеток с поврежденной ДНК (метка P53) и уровнем лимфомакрофагальной инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки десны ($r=0,56$, $p < 0,001$; и $r=0,50$, $p < 0,001$ соответственно).

Предполагается, что клеточному иммунитету принадлежит роль носителя «регенераторной информации», лимфоциты способны оказывать на клетки-мишени цитогенетический, цитостатический и цитолитический эффекты [6, 137].

Таким образом, структурные изменения слизистой оболочки десны при пародонтите в динамике под влиянием базовой терапии характеризовались редукцией воспалительных изменений, при этом первой подвергалась обратному развитию инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами. Лимфомакрофагальный инфильтрат подвергался редукции неравномерно, в большинстве случаев плотность мононуклеарной инфильтрации уменьшалась. Вместе с тем в 33,8% наблюдениях отмечалось сохранение клеточного инфильтрата умеренной и выраженной степени в собственной пластинке слизистой оболочки десны.

К ранним эффектам проведения базового курса лечения следует отнести угнетение активности воспалительного процесса, что проявлялось уменьшением выраженности инфильтрации компартментов слизистой оболочки десны нейтрофильными лейкоцитами, а к отсроченным – медленное исчезновение мононуклеарного инфильтрата. Анализ результатов гистологического и иммуногистохимического исследований биоптатов слизистой оболочки десны позволил обосновать выделение 3-х групп больных пародонтитом, имеющих не разную степень пародонтита, а разный характер течения болезни. Быстрее всего редукция воспалительного инфильтрата происходила в группе больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита ($\chi^2=12,180$; $\sqrt{df}=2$; $p<0,002$) – то есть у пациентов - носителей одного или двух полиморфных (высоко продуцирующих) аллелей генов воспалительных цитокинов. У пациентов с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита редукция воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны под влиянием терапии отставала на 2 месяца, по сравнению с больными с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита, ($\chi^2=100,000$; $\sqrt{df}=2$; $p<0,001$), большинство больных данной группы являлись носителями одновременно двух, чаще – трех полиморфных (высоко продуцирующих) аллелей генов воспалительных цитокинов. По результатам нашего исследования для больных с выделенными типами течения заболевания определялись различия в количестве иммунокомпетентных клеток, которые являются главными продуцентами IL-1 β и TNF α . В настоящее время имеется множество исследований, подтверждающих возможность выработки IL-1 β нейтрофильными лейкоцитами, десневыми фибробластами, поврежденными эпителиальными клетками. Была показана повышенная экспрессия мРНК цитокинов IL-1 β и TNF α в ответ на стимуляцию патогенными бактериями и их токсинами [359].

В биоптатах слизистой оболочки десны пациентов с «агрессивным» течением пародонтита отмечалось сохранение умеренной и выраженной (41 и 9 - соответственно) степени воспалительных изменений в собственной

пластинке слизистой оболочки десны после проведенного лечения ($\chi^2=4,456$; $\sqrt{=2}$; $p<0,108$). Именно в этой группе больных отмечено одновременное носительство четырех или пяти полиморфных (высоко продуцирующих) аллелей генов воспалительных цитокинов. В слизистой оболочке десны больных этой группы отмечалась персистенция популяций CD68+ макрофагов, CD45RO+ Т лимфоцитов памяти в собственной пластинке слизистой оболочки десны и популяций CD8+ и CD45RO+ Т лимфоцитов в эпителиальном компартменте слизистой оболочки десны, при клинических признаках ремиссии заболевания. Клетки инфильтрата CD8+ и CD45RO+ Т-лимфоциты локализовались преимущественно в базальном и супрабазальном слоях эпителия реализуя повреждающий потенциал и непосредственно под эпителием и внешне слизистая оболочка десны имела часто нормальный вид. Сохранение иммунокомпетентных клеток в компартментах слизистой оболочки десны отражалось на функциональном состоянии эпителиального дифферона, что поддерживало акантоз эпителия. Вероятно, такие особенности проявления воспалительного процесса связаны с характером реагирования системы интерлейкинов и нарастающий дисбаланс базовой и стимулированной индукции биологически активных веществ и соответствующих рецепторов реализуется на тканевом уровне и в характере клинических проявлениях воспаления.

Персистенция в слизистой оболочке десны лимфо-макрофагального инфильтрата, активно продуцирующего провоспалительные цитокины, на наш взгляд, обуславливает прогрессирующую деструкцию костной ткани за счет иммуноопосредованной активации остеокластов, определяя «агрессивный» характер течения болезни. [202, 203, 275] Формируется стабильная морфофункциональная перестройка тканей десны – ремоделирование десны в условиях патологии.

Какое клиническое значение имеет персистенция воспаления в десне у ряда больных для дальнейшего течения пародонтита и как можно использовать эти данные для прогноза пародонтита демонстрирует

проспективное исследование, которое было проведено в двух группах больных: основная группа из 75 пациентов (23 с «агрессивным», 22 с «умеренно прогрессирующим» и 30 с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита), которые находились под динамическим наблюдением в течение 12 месяцев, так как по разным причинам, не дали согласие на хирургическое лечение и группа сравнения из 75 пациентов (27 с «агрессивным», 28 с «умеренно прогрессирующим» и 20 с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита), которые дали согласие на проведение хирургического этапа лечения, и наблюдались, как и пациенты основной группы, 12 месяцев.

За данный период наблюдения у 26 пациентов основной группы (23 с «агрессивным», 2 с «умеренно прогрессирующим» и 1 с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита) отмечался рецидив клинических симптомов заболевания.

Клиническая оценка состояния тканей пародонта у остальных пациентов основной группы (20 с «умеренно прогрессирующим» и 29 с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита), показала, что гигиена полости рта через 2 месяца оставалась на прежнем уровне, а через 12 месяцев имела тенденцию к снижению, но в целом, сохранилась на удовлетворительном уровне ($p < 0,00001$). Такая же закономерность, как для индекса гигиены полости рта, отмечена для значений индексов ПМА ($p < 0,00001$), кровоточивости ($p < 0,00001$) и ПИ ($p < 0,00001$).

Оценка структурных изменений в слизистой оболочке десны у больных проводилась в те же сроки при выполнении гигиенических процедур, требующих обезболивания (у больных основной группы), при выполнении хирургического этапа лечения у больных группы сравнения.

При оценке морфологических изменений в слизистой оболочке десны через 2 месяца после окончания базового курса терапии установлено, что у больных основной группы с «агрессивным» течением пародонтита сохранялся воспалительный инфильтрат в слизистой оболочке десны, выраженность

инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами в слизистой оболочке десны увеличилась с момента окончания базового курса лечения ($\chi^2=10,599$; $\sqrt{4}$; $p<0,005$). Все 23 пациента с «агрессивным» течением пародонтита из основной группы обратились с клиническими признаками обострения заболевания в течение 12 месяцев (с третьего по двенадцатый месяцы) после проведения базового курса терапии.

У больных основной группы с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита через 2 месяца после окончания базового курса терапии в биоптатах 11 пациентов (50%) выраженность инфильтрации нейтрофильными лейкоцитами повысилась ($\chi^2=11,399$; $p<0,0001$), в биоптатах 7 пациентов (31,8%) увеличилась степень выраженности моноклеарной инфильтрации в собственной пластинке слизистой оболочки десны ($\chi^2=15,230$; $p<0,0001$). Первый пациент из данной группы обратился с клиническими признаками обострения заболевания только через 9 месяцев после окончания базового курса терапии.

У больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита при обследовании через 2 месяца после окончания лечения в 16 (53,3%) биоптатах десны отмечалось минимальное количество нейтрофильных лейкоцитов и минимальное количество лимфоцитов. При обследовании через 12 месяцев после окончания лечения у 25 (83,3%) пациентов в компартментах слизистой оболочки десны признаки воспаления практически не определялись ($\chi^2=14,226$; $\sqrt{4}$; $p<0,0001$). И лишь у 1 пациента из данной группы через 12 месяцев отмечены клинические признаки обострения заболевания.

Из полученных данных видно, что наиболее благоприятно период после лечения проходил у пациентов с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита. И наиболее неблагоприятно период после проведения курса базовой терапии протекал у больных с «агрессивным» течением пародонтита, которые являлись носителями одновременно нескольких высоко продуцирующих полиморфных аллелей воспалительных цитокинов (аллелей

T гена *IL-1 β* (*C -511 T*), *T* гена *IL-1 β* (*C+3953 T*), *A* гена *TNF α* (*G -308 A*) и генотипа *3R/3R* гена *IL-4* (интрон 3).

На наш взгляд, персистенция макрофагов и Т-лимфоцитов памяти в собственной пластинке слизистой оболочки десны и популяций CD8⁺ и CD45RO⁺ Т лимфоцитов в эпителиальном компартменте слизистой оболочки десны – обуславливает поддержание воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны, что определяет рецидив клинических признаков пародонтита. Перечисленные клеточные кооперации демонстрируют связь, как с гистологической перестройкой тканей десны, так и с наличием в геноме нескольких полиморфных аллелей генов цитокинов и рецидивом клинических проявлений заболевания. В литературе имеются данные об участии в иммунопатологическом процессе клеток иммунной памяти, так антиген-реактивные клетки CD45RO⁺ могут реализовать ускоренный ответ на воздействие антигена, среди интерлейкинов, способных длительно поддерживать жизнеспособность клеток памяти описаны IL-4, IL-2 за счет наличия общей γ -цепи рецептора [252, 308, 327], также эти клетки экспрессируют на своей поверхности рецепторы к TNF α [280, 283]. Возможно, в условиях избыточной выработки IL-4, TNF α , IL-1 β происходит ускоренный запуск клеточных и гуморальных реакций, обеспечивая иммуногенез по принципу обратной связи. В экспериментальном исследовании было продемонстрировано, как на стимулирующие Th-1 ответ сигналы, происходила выработка Th-2 клетками и Th-2 цитокинов и IFN γ , также была отмечена переориентация и выделение активированными Th-1 клетками памяти Th-1 и Th-2 цитокинов, что подтверждает высокую зависимость иммунного ответа от микроокружения в условиях взаимодействия с антигенами при реализации воспаления [62, 327, 372].

У больных группы сравнения, которым было проведено хирургическое устранение пародонтальных карманов, за период наблюдения (12 месяцев) не было зафиксировано случаев рецидива клинических симптомов пародонтита. При обследовании 33 пациентов этой группы (4 с «медленно

прогрессирующим», 16 с «умеренно прогрессирующим» и 13 с «агрессивным» течением пародонтита) через 12 месяцев, возникла необходимость в выполнении гигиенических процедур и частичной коррекции тканей десны. При проведении данных манипуляций выполнялось гистологическое исследование. Установлено, что у пациентов, которым проводилось хирургическое устранение пародонтальных карманов, воспалительные изменения в компартментах слизистой оболочки десны практически отсутствовали, несмотря на наличие «провоспалительного генотипа» у них. Это может служить обоснованием выбора хирургической тактики, а не консервативной, независимо от стадии заболевания для данных пациентов.

Как было показано выше, в течение 12 месяцев после проведенного курса базовой терапии, клинические проявления хронического генерализованного пародонтита и структурные изменения в слизистой оболочке десны у пациентов были неодинаковыми. Поэтому мы провели ретроспективный анализ, в котором сопоставили динамику структурных изменений в слизистой оболочке десны и данные генетического исследования полиморфизма генов воспалительных цитокинов больных пародонтитом в результате чего, установлено, что в группе пациентов с персистенцией воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны (преимущественно больные с «агрессивным» течением пародонтита) статистически значимо чаще выявлялся аллель *T* гена *IL-1β* (*C* -511 *T*), чем в группе лиц с регрессом воспалительного инфильтрата (преимущественно больные с «умеренно прогрессирующим» и «медленно прогрессирующим» течением пародонтита) ($\chi^2=10,875; \sqrt{1}; p<0,004$). Различий в частоте встречаемости нуклеотидной замены *C*+3953 *T* гена *IL-1β*, у больных хроническим генерализованным пародонтитом с регрессом воспалительного инфильтрата и персистенцией воспалительного инфильтрата не определялось ($\chi^2=0,362; \sqrt{1}; p>0,05$). При изучении частоты встречаемости аллелей гена *IL-1RN* (*VNTR* интрон 2) у больных пародонтитом с регрессом воспалительного инфильтрата и персистенцией воспалительного инфильтрата

установлено, что статистически значимо чаще у больных с признаками персистенции воспалительного инфильтрата встречался аллель *2R* гена *IL-1RN* (*VNTR* интрон 2) ($\chi^2=20,290$; $\sqrt{1}$; $p<0,0001$). В группе больных пародонтитом с признаками персистенции воспалительного инфильтрата в тканях десны статистически значимо чаще встречался аллель *-308 A* полиморфного локуса *G -308 A* гена *TNF α* ($\chi^2=9,499$; $\sqrt{1}$; $p<0,009$).

При анализе частоты встречаемости аллелей *2R* и *3R* полиморфного локуса (*VNTR* интрон 3) гена *IL -4* у больных пародонтитом с регрессом воспалительного инфильтрата и персистенцией воспалительного инфильтрата статистически значимых различий не определялось ($\chi^2=1,100$; $\sqrt{1}$; $p>0,05$). В группе больных с персистенцией воспалительного инфильтрата статистически значимо чаще встречался генотип *3R/3R* полиморфного локуса (*VNTR* интрон 3) гена *IL -4* ($\chi^2=11,306$; $p<0,001$).

Учитывая, что несколько полиморфных локусов генов *IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* , *IL-4* были ассоциированы с феноменом персистенции воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки десны, нами были проанализированы комбинации аллелей у больных пародонтитом.

В группе лиц с признаками редукции воспалительного инфильтрата в тканях десны в 21% случаев отмечалось совместное носительство полиморфных аллелей *-511 T** гена *IL-1 β* и *2R** гена *IL-1RN*, а в группе лиц с признаками персистенции воспалительного инфильтрата – 80% случаев. В 40% случаев отмечался биаллельный полиморфизм *-511 T** с *+3953 T** гена *IL-1 β* в группе больных с признаками редукции воспалительного инфильтрата и в 30% случаев у пациентов с признаками персистенции воспалительного инфильтрата, из них 16% при совместном носительстве с аллелем *-308 A** гена *TNF α* и генотипом *3R/3R* гена *IL-4* (*VNTR* интрон 3).

В группе лиц с признаками персистенции воспалительного инфильтрата в тканях десны возрастает число носителей комбинации аллелей *-511 T** гена *IL-1 β* и *2R** гена *IL-1RN* с полиморфным аллелем *-308 A** гена *TNF α* и генотипом *3R/3R* гена *IL-4* (32% случаев) и генотипом *3R/2R* гена *IL-4* (24%

случаев). При комбинации аллелей - 308 G гена *TNF α* с генотипом 3R/3R гена *IL-4* с полиморфными аллелями -511 T* гена *IL-1 β* и 2R* гена *IL-1RN* вдвое чаще больные относились к группе с персистенцией воспалительного инфильтрата (24% и 12% - соответственно).

Полученные данные свидетельствуют, что характерной генетической характеристикой пациентов с персистенцией воспалительного инфильтрата в тканях десны можно считать ассоциацию аллелей полиморфных локусов - 511*T гена *IL-1 β* / *2R гена *IL-1RN*/ -308A* гена *TNF α* и ассоциацию аллелей полиморфных локусов -511*T и +3953*T гена *IL-1 β* / 2R* гена *IL-1RN*/ -308A* гена *TNF α* преимущественно с генотипом 3R/3R гена *IL-4*. Возможно, данное совместное носительство полиморфных аллелей *IL-1 β* с коротким аллелем *IL-1RN**2R является основой персистенции воспалительного инфильтрата в десне пациентов и позволяет говорить о провоспалительной роли данных комбинаций аллелей.

Известно, что аллель 2R* гена *IL-1RN* и -511C гена *IL-1 β* чаще наследуются вместе из-за расположения в последовательности гена и у лиц, являющихся гетерозиготами одна хромосома несет гаплотип 511*T гена *IL-1 β* / 4R гена *IL-1RN*, другая хромосома несет гаплотип – 511C гена *IL-1 β* / 2R* гена *IL-1RN*, в результате человек становится носителем двух полиморфных аллелей. В нашем исследовании было достаточно пациентов, имевших гаплотип -511*T и +3953*T гена *IL-1 β* / 2R* гена *IL-1RN*, похожие результаты были получены и в ряде других исследований, вероятнее всего наличие такого гаплотипа объясняется мейотической рекомбинацией участка хромосомы [42, 478].

Подобные данные относительно совместного носительства полиморфных аллелей *IL-1 β* с коротким аллелем *IL-1RN* 2R* получены рядом исследователей, изучавших воспаление слизистой оболочки желудка. Они показали, что носительство аллеля *IL-1RN* 2R* повышает риск развития хронического гастрита у индийцев, у европейцев носителей *IL-1RN*2R развивается более длительное и выраженное воспаление слизистой оболочки

желудка [478]. Существует гипотеза о том, что гаплотип *IL-1β* -511T/*IL-1RN*2R в европейской популяции определяет длительное выраженное течение гастрита [4, 69, 127, 142, 174, 209, 298, 305]. Принято считать, что носительство немутантных аллелей определяет адекватную выработку белков в процессе реализации воспаления, а носительство мутантных аллелей процесс воспаления может протекать более остро и/или более продолжительно и может неодинаково проявиться на разных стадиях воспалительного процесса [247, 332]. Также было высказано предположение, что уровень IL-1Ra регулируется совместно генами *IL-1β* и *IL-1RN* и при носительстве аллеля *IL-1RN* 2R* отмечается повышенная выработка и IL-1Ra и IL-1β [259, 285, 295]. Возможно, такое совместное носительство аллелей полиморфных локусов *IL-1β*, *IL-1RN* с полиморфными аллелями генов *TNFα* и *IL-4*, которые по литературным данным ассоциированы с большей базальной и индуцированной выработкой цитокина при реализации воспаления, являются основой персистенции воспалительного клеточного инфильтрата в компартаментах слизистой оболочки десны у больных пародонтитом.

Как видно из рисунка (рисунок 67), наличие «провоспалительного» генотипа у пациента не всегда определяло наличие выраженной степени морфологических проявлений воспаления в тканях десны (цилиндр 1, 2).

У части пациентов с «провоспалительным» генотипом изменения были определены как выраженные, а у части – умеренные. Спустя 3 месяца по окончании терапии у части больных сохранялся воспалительно-клеточный инфильтрат в слизистой оболочке десны при наступлении клинических признаков ремиссии пародонтита (цилиндр 3), но только часть этих больных были носителями «провоспалительного» генотипа. У остальных пациентов степень воспалительных изменений в слизистой оболочке десны оценивалась как слабая.

Сопоставляя данные молекулярно–генетического и морфологического исследований с клиническими проявлениями болезни установлено, что

носители «провоспалительного» генотипа составили часть от группы пациентов с «агрессивным» течением пародонтита (цилиндр 4).

Таким образом, наличие полиморфных аллелей генов воспалительных цитокинов, определяющих персистенцию воспалительного инфильтрата в тканях десны с наличием устойчивых межклеточных коопераций Т-лимфоцитов памяти, макрофагов, цитотоксических лимфоцитов, позволяет персонафицировать прогноз болезни стратегически, персонафицированная терапия (тактика в отношении каждого зуба, каждого пародонтального кармана) требуют учета многих факторов пациента.



5.2 Предикция варианта течения хронического генерализованного пародонтита и определения тактики курации пациентов (персонафицированная терапия)

В качестве прогностических факторов течения пародонтита нами тестировались все клинические и лабораторные признаки, выявление которых проводилось до инициации базового лечения для определения оптимального набора предикторов (для модели прогноза), с помощью которых врач сможет прогнозировать течение хронического пародонтита у больного. С этой целью нами рассчитывались чувствительность (Se), специфичность (Sp) и связанные с ними показатели - отношения правдоподобия для положительного (LR+) и отрицательного результатов (LR-) предполагаемых предикторов варианта течения болезни. В качестве критерия отбора информативных дискриминантных переменных использовалась статистика Уилкса (Z критерий) с помощью которой рассчитывали информативность каждого показателя. Все показатели, продемонстрировавшие значимость для прогноза течения пародонтита, были проанализированы в трех разных моделях как предикторы прогноза, а далее для разработки системы поддержки принятия решений на основе предикторных характеристик с целью персонафицированной курации больных с использованием дискриминантного анализа была разработана программа для ЭВМ (Свидетельство о государственной регистрации № 2012613365 от 9.04.2012 года), апробирована в клинических условиях, позже была разработана более удобная программа для ЭВМ (Свидетельство о государственной регистрации № 2015616996 от 12 февраля 2015 года).

Принцип использования продемонстрирован на рисунках (рис. 68). После анализа клинических данных и определении у пациента комбинации полиморфных аллелей генов *IL-1 β* , *IL-1RN*, *TNF α* и *IL-4* делается вывод о характере течения хронического генерализованного пародонтита. Затем на основании анализа анатомии зуба, характера поражения твердых тканей зуба, эндодонтальной и периодонтальной деструкции альвеолярной кости в качестве заключения и поддержки принятия решения врач получает рекомендацию. Например, при наличии однокорневого зуба с поражением

твердых тканей в виде кариозной полости, без периапикальной деструкции и резорбцией альвеолярной кости до $1/2$ при комбинации полиморфных аллелей, соответствующей «агрессивному» течению болезни, будет рекомендовано: удаление над- и поддесневых зубных отложений, лечение твердых тканей зуба, хирургическое устранение пародонтального кармана (рисунок 69). При аналогичной клинической ситуации и комбинации полиморфных аллелей, соответствующей «умеренно прогрессирующему» течению болезни, будет рекомендовано: удаление над- и поддесневых зубных отложений, лечение твердых тканей зуба, консервативное лечение пародонта, через 3 месяца выполнить гистологическое исследование биоптата десны. При редукции воспалительного инфильтрата - проводить динамическое наблюдение каждые 3 месяца, при наличии признаков персистенции воспалительного инфильтрата – провести хирургическое устранение пародонтального кармана (рисунок 70). При той же клинической ситуации и комбинации полиморфных аллелей, соответствующей «медленно прогрессирующему» течению болезни, будет рекомендовано: удаление над- и поддесневых зубных отложений, лечение твердых тканей зуба, динамическое наблюдение 1 раз в 12 месяцев (рисунок 68).

Следует отметить, что подобные формулировки из компьютерной программы не подменяют клиническое мышление, но служат лишь поддержкой принятия решения, которые врач обосновывает собственным клиническим опытом, уровнем квалификации, техническими возможностями, степенью сотрудничества с пациентом. Учитывая, что ситуация в полости рта у каждого стоматологического пациента индивидуальна, создание жестких алгоритмов лечения пародонтита не совсем оправдано. Предлагаемая программа интеллектуальной поддержки принимаемых решений дает возможность автоматизировать сбор и обработку клинических и лабораторных данных, выполнить анализ результатов и их интерпретацию, результат выводится на печать, (может быть сохранен в базе лечебного подразделения) представляя врачу-специалисту информацию для обсуждения с пациентом конечного плана, объема, последовательности обследования и лечения, а также долгосрочной программы наблюдения.

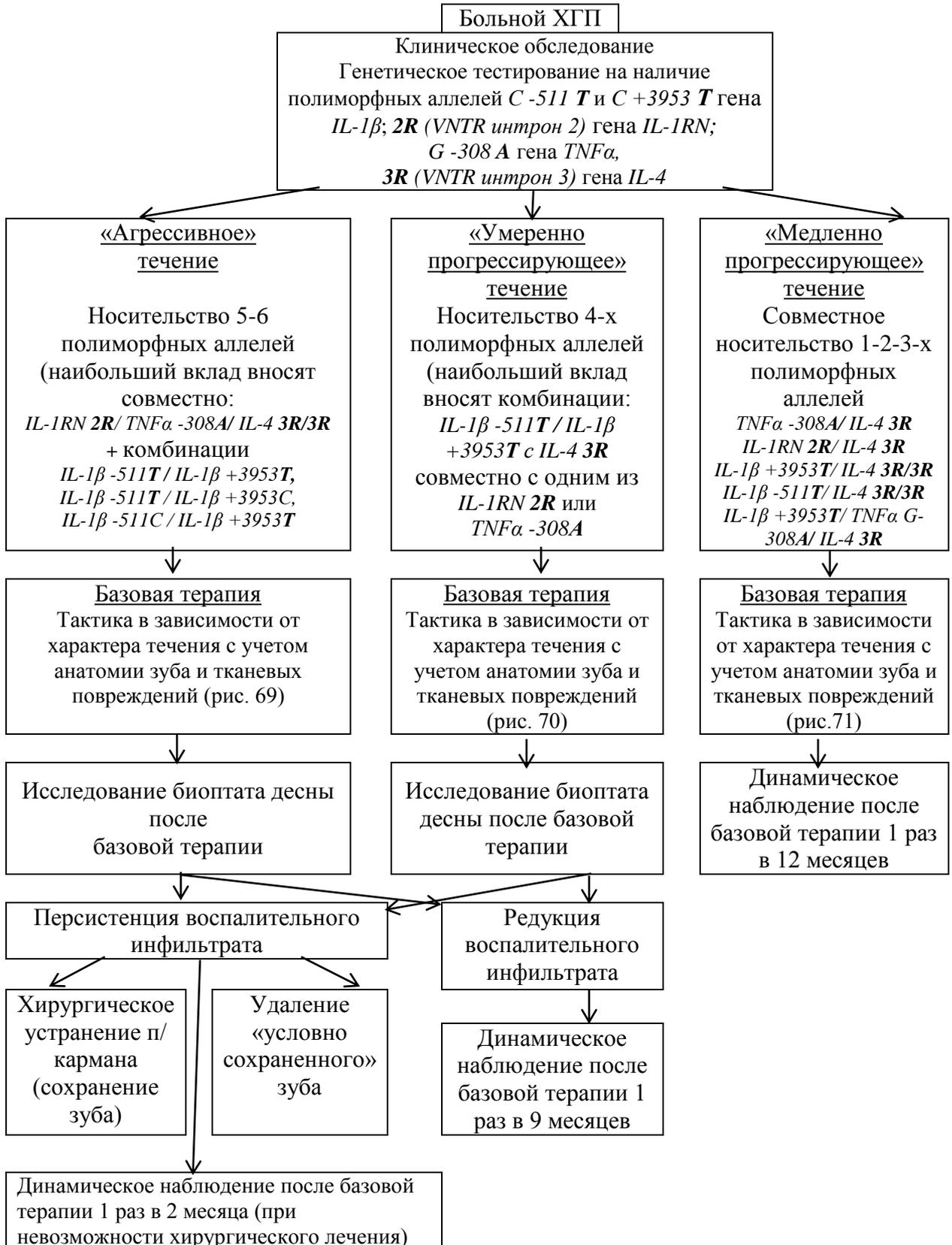
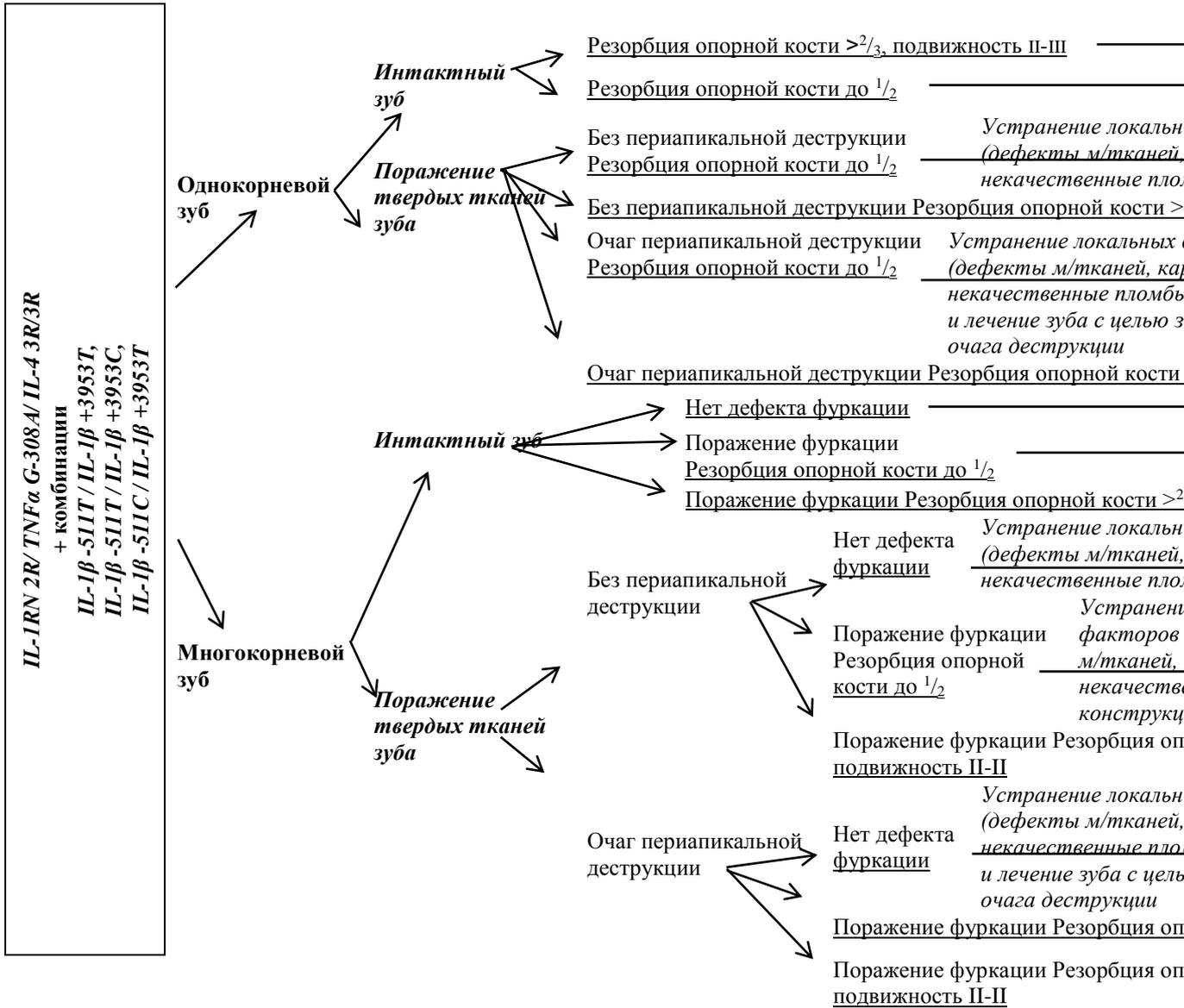


Рисунок 68 - Реализация персонифицированного подхода при курации больных хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП). Схема принятия решения и алгоритм действия врача при динамическом наблюдении пациента.



* - хирургическое устранение п/кармана

Рисунок 69 - Персонализированная терапия больных хроническим генерализованным пародонтитом в зависимости от молекулярно-генетических характеристик («агрессивное» течение), анатомии зуба и тканевых повреждений.

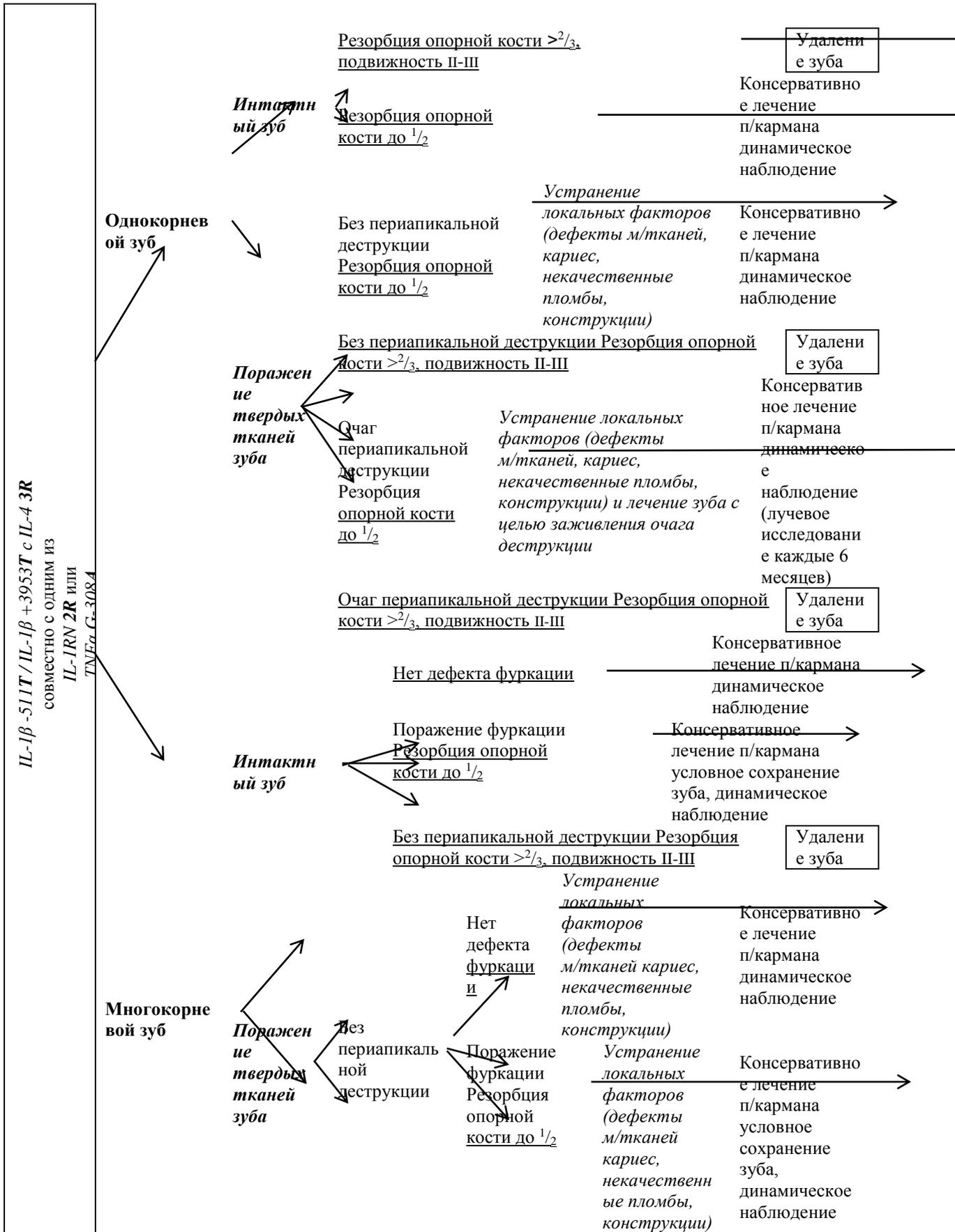


Рисунок 70 - Персонализированная терапия больных хроническим генерализованным пародонтитом в зависимости от молекулярно-генетических характеристик («умеренно прогрессирующее» течение), анатомии зуба и тканевых повреждений.

TNFA G-308A/ IL-4 3R
 IL-1RN 2R/ IL-4 3R
 IL-1β +3953T/ IL-4 3R/3R
 IL-1β -511T/ IL-4 3R/3R
 IL-1β +3953T/ TNFA G-308A/ IL-4 3R

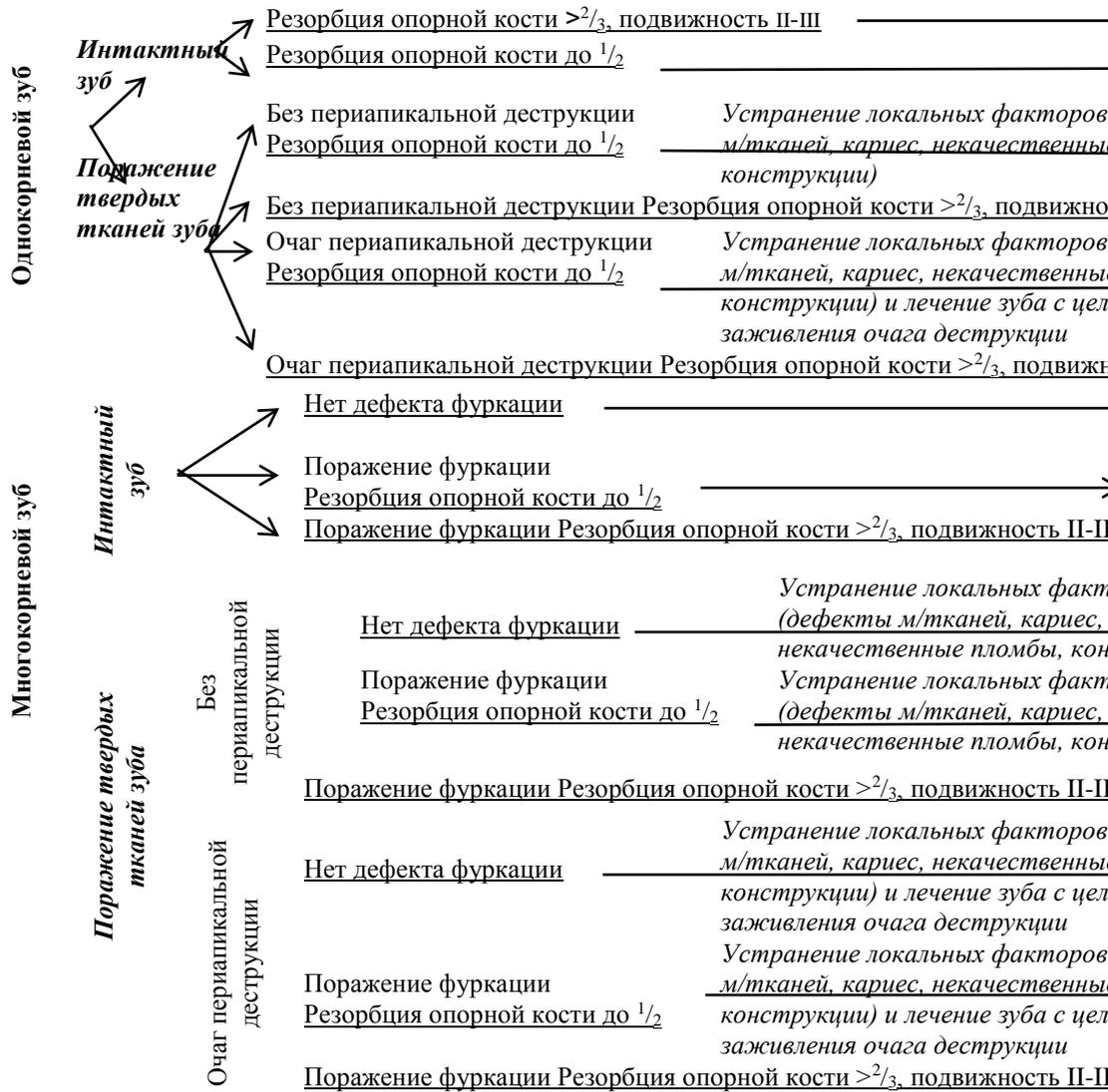


Рисунок 71 - Персонализированная терапия больных хроническим генерализованным пародонтитом в зависимости от молекулярно-генетических характеристик («медленно прогрессирующее» течение), анатомии зуба и тканевых повреждений.

Пациентка 56 лет.

Хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени

«Умеренно прогрессирующее течение»

IL-1 β -511T / IL-1 β +3953T / IL-1RN 4R / TNF α -308A

с IL-4 3R2R

Проведено комплексное лечение (с учетом генетических тестов выбрано консервативное лечение пародонтальных карманов)



Некоторые этапы лечения



Состояние через 5 лет (ремиссия 5 лет)



Пациент 45 лет.

Хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени

«Агрессивное течение»

IL-1 β -511T / IL-1 β +3953C / IL-1RN 2R / TNF α -308A

с IL-4 3R3R

Проведено комплексное лечение (с учетом генетических тестов выбрано хирургическое лечение пародонтальных карманов)



Некоторые этапы лечения





Ремиссия 5 лет



Пациент 42 года.

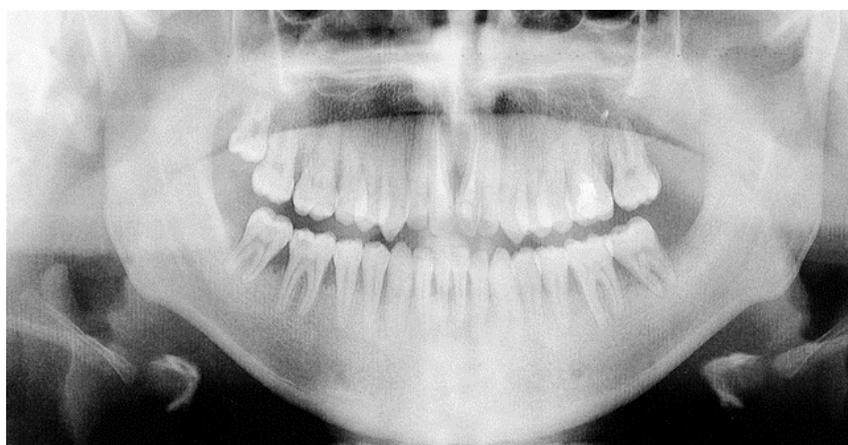
Хронический генерализованный пародонтит средней степени

«Агрессивное течение»

IL-1 β -511T / IL-1 β +3953C / IL-1RN 2R / TNF α -308A

с IL-4 3R3R

(после обследования сменил место жительства, не лечился)

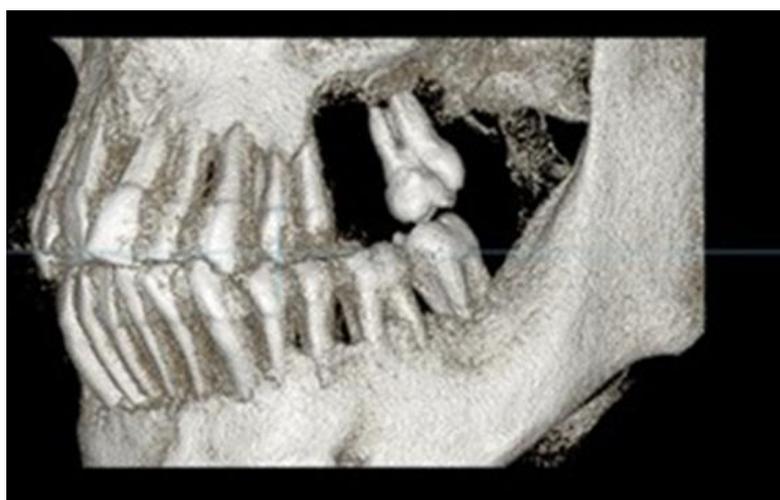


Пациент 48 лет

(клиническая картина через 6 лет, не лечился)



(данные КЛКТ через 6 лет)



Заключение

Хроническое воспаление (генерализованный пародонтит – как частная модель) на сегодняшний день, достаточно изучено с точки зрения этиологии (Listgarten M.A., Lai C., Evian C., 1981, Carlsson J., 1989, Haffajee A.D., Socransky S.S., 2000, Page R.S., Kornman K.S., 2000, Shiloah J., Patters M.R., Waring M.B., 2000, Ушаков Р.В., 1997, Цимбалистов А.В. 1999, Соловьева М.М., 2004, Царев В.Н., Николаева Е.Н., 2008, Зорина О.А., 2011). В патогенезе генерализованного пародонтита исследовано множество механизмов, связанных с ослаблением общих и местных иммунологических факторов, нарушением нейроэндокринной регуляции, влиянием хронической окклюзионной травмы (Loe H., Brown L.J., 1991, Seymour G., 1993, Flemmig T., Miyasaki K., 1994, Roitt I.M., Brostoff J., Male D.K., 1995, Schroeder H.E., Listgarten M.A., 2000, Muller H.P., 2000, Carranza F., Shklar G., 2003, Грудянов А.И., 2000, Дмитриева Л.А., 2001, Григорян А.С., Фролова О.А., 2002, Цепов Л. М., 2002, Орехова Л.Ю., 2004, , Модина Т.Н., 2004, Воложин А.И., Барер Г.М., 2005). Одним из ключевых современных направлений является изучение генетической регуляции воспалительного ответа (Kornman K.S., Grane A., 2000, Lang N.P., Tonetti M.S., 2000, Kobayshi T., Sugita N., 2000, Newman M.G., Carranza F.A., 2002, Ozava A., Tada H., Tamai R., 2003, Erciyas K., 2010; Scarel-Caminaga R.M. et al., 2011, Steeves C.H. et al., 2011, Безрукова Н.В., 2001, Почтаренко В.А., 2005, Кононов А.В., Поморгайло Е.Г., Горбунова И.Л., 2006, Царев В.Н., Николаева Е.Н., 2008, Артрушкевич В.Г., Дмитриева Л.Ю., 2009, Зорина О.А., 2011). По анализу работ, в которых изучались как пародонтит, так и другие заболевания, несмотря на противоречивые результаты, сложилось впечатление, что факт наличия в структуре гена аллельного или тандемного полиморфизма может свидетельствовать о более высоком воспалительном ответе. Таким образом, больные пародонтитом, у которых определяется такой полиморфизм «обречены» на быстрое прогрессирование воспаления и, как результат - потерю зубов, а лица, у которых структура гена не изменена, вероятно, будут демонстрировать менее выраженный воспалительный ответ,

и имеют более благоприятный прогноз заболевания. Очевидно, такая парадигма является слишком общей, а прогноз, выстроенный по такому принципу, - рискованным. Нам показалось оправданным оценить, как реализуется воспалительный ответ при пародонтите у лиц с разными генетическими характеристиками на структурном уровне в органе – «мишени» (десне), как эти изменения сопоставляются с клиническими проявлениями заболевания. Воспалительный ответ на структурном уровне мы рассматривали с позиции двух клеточных популяций: эпителиальной и лимфо – макрофагальной. Оценка структурных изменений в десне пациента по биоптату может явиться как патогенетической основой терапии, так и, одновременно с результатами генетического тестирования - фундаментальной основой для прогноза заболевания.

Выводы:

1. У больных хроническим генерализованным пародонтитом достоверно чаще определяются полиморфные аллели $-511T$ и $+3953T$ гена $IL-1\beta$; генотипы $2R/2R$ и $2R/4R$ гена $IL-1RN$ ($VNTR$ интрон 2); аллель $3R$ гена $IL-4$ ($VNTR$ интрон 3). Содержание $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-4$ в сыворотке крови больных пародонтитом в период выраженных клинических проявлений болезни статистически значимо выше: $IL-1\beta$ в 2,8 раз; $TNF\alpha$ в 3,3 раза; $IL-4$ в 2,5 раза, чем в крови доноров.

2. Гетерогенность хронического генерализованного пародонтита ранжируется на три варианта течения заболевания. «Агрессивное» течение ассоциировано с совместным носительством полиморфных аллелей генов $IL-1RN$ $2R$ ($VNTR$ интрон 2) / $TNF\alpha$ $-308A$ / генотипа $IL-4$ $3R/3R$ ($VNTR$ интрон 3) в комбинации с полиморфными аллелями гена $IL-1\beta$ $-511T$ / $IL-1\beta$ $+3953T$, $IL-1\beta$ $-511T$ / $IL-1\beta$ $+3953C$, $IL-1\beta$ $-511C$ / $IL-1\beta$ $+3953T$; «Умеренно прогрессирующее» течение ассоциировано с одновременным носительством аллелей гена $IL-1\beta$ $-511T$ / $IL-1\beta$ $+3953T$ с $IL-4$ $3R$ совместно с $IL-1RN$ $2R$ или $TNF\alpha$ $-308A$; «Медленно прогрессирующее» течение ассоциировано с достоверно меньшим носительством (до 3-х) полиморфных аллелей генов цитокинов: $TNF\alpha$ $-308A$ / $IL-4$ $3R$; $IL-1RN$ $2R$ / $IL-4$ $3R$; $IL-1\beta$ $+3953T$ / $IL-4$ $3R/3R$; $IL-1\beta$ $-511T$ / $IL-4$ $3R/3R$; $IL-1\beta$ $+3953T$ / $TNF\alpha$ $-308A$ / $IL-4$ $3R$. У больных с выделенными типами клинического течения болезни статистически значимых различий содержания $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-4$ в сыворотке крови не установлено.

3. При различных клинических вариантах течения хронического пародонтита выявлены статистически значимые различия содержания иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих $CD8$, $CD4$, $CD45RO$, $CD20$, $Ki67$, $CD68$ в биоптатах слизистой оболочки десны больных, достоверно меньшее количество иммунокомпетентных клеток зафиксировано у лиц с «медленно прогрессирующим» течением болезни.

4. Носительство любого из полиморфных аллелей ($C-511T$), ($C+3953T$) гена $IL-1\beta$, ($G-308A$) гена $TNF\alpha$ и генотипа $3R/3R$ гена $IL-4$ ($VNTR$ интрон 3) ассоциировано с высокой плотностью мононуклеарного воспалительного инфильтрата, представленного $CD4$, $CD8$, $CD20$ популяциями лимфоцитов в

сочетании с большим числом лимфоцитов памяти CD45RO, макрофагов CD68 и интенсивной инфильтрацией нейтрофильными лейкоцитами. Степень инфильтрации слизистой оболочки десны (максимальная клеточная плотность на 1мм² среза биоптата) мононуклеарными клетками и нейтрофильными лейкоцитами не в полной мере зависит от варианта клинического течения болезни, а определяется исключительно комбинацией полиморфных аллелей генов цитокинов.

5. Под влиянием базовой терапии клинические показатели состояния пародонта у лиц с «медленно прогрессирующим» течением достоверно снижаются на всех этапах обследования и через 3 месяца имеют минимальные значения (ИК - 0,1 балл и ПМА – 2,1%); у лиц с «умеренно прогрессирующим» течением аналогичные показатели статистически значимо выше через 1 месяц ($p < 0,05$), и снижаются до уровня показателей лиц с «медленно прогрессирующим» течением через 3 месяца (ИК – 0,21 балл и ПМА – 4,1%); у больных с «агрессивным» течением заболевания показатели состояния тканей пародонта статистически значимо превышают показатели лиц с «медленно прогрессирующим» и «умеренно прогрессирующим» течением болезни (к окончанию базовой терапии ИК – 0,93 балла и ПМА – 11,6%). В отдаленные сроки после базового лечения рецидив клинических признаков болезни наблюдается через 12 месяцев у 3,8% больных с «медленно прогрессирующим» течением пародонтита; через 9 месяцев у 7,7% больных с «умеренно прогрессирующим» течением пародонтита. Самый короткий период ремиссии от 3-х до 6 месяцев отмечается у 88,5% больных с «агрессивным» течением пародонтита. При хирургическом лечении у больных пародонтитом с «агрессивным» течением ремиссия признаков заболевания достигает 5 лет.

6. У пациентов с «агрессивным» течением пародонтита, имеющих комбинацию полиморфных аллелей *IL-1RN 2R (VNTR интрон 2) / TNF α -308A* / генотипа *IL-4 3R/3R (VNTR интрон 3)* совместно с аллелями *-511T* и *+3953T* гена *IL-1 β* , после курса базовой терапии в тканях пародонта доминируют

CD45RO – Т лимфоциты памяти, цитотоксические CD8 и CD68 макрофаги, вызывающие персистенцию воспалительного процесса в пародонте и короткую ремиссию заболевания (2 месяца). Вариант течения заболевания зависит от тенденции воспалительного инфильтрата – персистенция или редукция воспалительных изменений. Присутствие CD45RO лимфоцитов памяти, цитотоксических CD8 лимфоцитов и макрофагов (CD68), сохранение в мононуклеарных клетках высокого уровня Ki67, в сочетании с наличием акантотических эпителиальных тяжей и высокой пролиферативной активностью эпителия (по уровню Ki67 позитивных эпителиоцитов) является молекулярно – клеточной основой персистенции воспаления и прогностическим признаком неблагоприятного течения заболевания.

7. Наибольшей валидностью в предикции персистенции воспалительного клеточного инфильтрата обладают следующие взаимосвязанные признаки: полиморфный аллель 2R гена *IL-1RN (VNTR интрон 2)*/ полиморфный аллель -308A гена *TNFα*/ генотип 3R/3R гена *IL-4 (VNTR интрон 3)* совместно с комбинациями -511T, +3953 T гена *IL-1β*; -511T, +3953 C гена *IL-1β*; -511C +3953 T гена *IL-1β*.

8. Предикторами характера течения хронического генерализованного пародонтита являются следующие признаки: на уровне клинических характеристик больного и тканей пародонта – возраст больного, давность болезни, курение, глубина преддверия полости рта, глубина пародонтального кармана, подвижность зубов, костный показатель Фукса; на уровне иммунофенотипа клеток воспалительного инфильтрата – устойчивые кооперации CD45RO – Т лимфоцитов памяти и макрофагов (CD68) в собственной пластинке слизистой оболочки десны, цитотоксических CD8 и CD45RO – Т лимфоцитов памяти в эпителиальном компартменте десны; на уровне генотипа пациента – варианты совместного носительства полиморфных аллелей генов цитокинов -511T, +3953 T гена *IL-1β*, аллель 2R гена *IL-1RN (VNTR интрон 2)*, аллель -308A гена *TNFα*, аллель 3R гена *IL-4 (VNTR интрон 3)*.

9. Разработаны компьютерные программы (Свидетельство о государственной регистрации № 2012613365 от 9.04.2012 года и № 2015616996 от 12 февраля 2015 года) для врачей стоматологов, позволяющие дискриминировать больных хроническим генерализованным пародонтитом по характеру течения заболевания («агрессивное», «умеренно прогрессирующее» и «медленно прогрессирующее») для персонализации базового лечения и долгосрочной программы курации больных.

Практические рекомендации

На основании установленных закономерностей воспалительных изменений слизистой оболочки десны больных пародонтитом с различным характером течения заболевания под влиянием базовой терапии и в течение 12 месяцев после нее, предлагаем реализовать персонализированный подход при курации больных хроническим генерализованным пародонтитом в зависимости от результатов генетического тестирования (наличие полиморфных аллелей *C -511 T* и *C +3953 T* гена *IL-1β*; **2R** (*VNTR интрон 2*) гена *IL-1RN*; *G -308 A* гена *TNFα*, **3R** (*VNTR интрон 3*) гена *IL-4*) учитывая количество и характер совместного носительства данных аллелей, дискриминировать больных пародонтитом по предполагаемому характеру течения болезни на больных с «Агрессивным», «Умеренно прогрессирующим» или «Медленно прогрессирующим» течением.

При отнесении больного к группе с «Медленно прогрессирующим» течением болезни, после проведения базового курса терапии осуществлять динамическое наблюдение один раз в 12 месяцев.

При отнесении больного к группе с «Агрессивным» или «Умеренно прогрессирующим» течением болезни, после проведения базового курса терапии необходимо провести исследование биоптата десны (из каждой сомнительной зоны). При обнаружении признаков редукции воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны - осуществлять динамическое

наблюдение за пациентом один раз в 9 месяцев. При обнаружении признаков персистенции воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны – провести хирургическое устранение пародонтального кармана или удалить зуб с последующей санацией костной раны. При невозможности выполнить хирургическое устранение пародонтальных карманов или удаление зуба при обнаружении признаков персистенции воспалительного инфильтрата в слизистой оболочке десны – проводить динамическое наблюдение и противомикробное лечение 1 раз в 2 месяца.

По известным принципам составляется прогноз для каждого зуба (где учитывается его анатомия и характер тканевых повреждений) и соотносится с характером течения болезни для решения вопроса о возможности сохранения зуба (при условии консервативного лечения пародонтального кармана или хирургического устранения пародонтального кармана) или принимается решение об удалении зуба (схема - для «агрессивного», схема - для «умеренно прогрессирующего» и схема - для «медленно прогрессирующего» течения пародонтита).

Список литературы

1. Агеева Е. С. Роль $\text{tnf-}\alpha$ в развитии *helicobacter pylori*-ассоциированного хронического атрофического гастрита / Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева // Сибирское медицинское обозрение. – 2013. – № 3. – С. 30-32.
2. Анализ полиморфных вариантов генов цитокинов у пациентов с ВИЧ-инфекцией / Н. А. Сухаленцева [и др.] // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 79-82.
3. Аруин Л. И. *Helicobacter pylori*: каким образом один возбудитель вызывает разные болезни // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. – № 1. – С. 36-41.
4. Аруин Л. И. Новая классификация хронического гастрита / Л. И. Аруин, А. В. Кононов, С. И. Мозговой // Актуальные вопросы патологической анатомии : материалы III съезда Рос. о-ва патологоанатомов. – 2009. – Т. 1. – С. 5-8.
5. Ассоциация аллелей генов цитокинов со степенью тяжести воспалительных заболеваний пародонта у человека / А. В. Сафонова [и др.] // Acta Naturae. – 2011. – Т. 3, № 1. – С. 123-129.
6. Бабаева А. Г. Иммунология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений / А. Г. Бабаева, Е. А. Зотиков, Н. Д. Скуба. – Москва : Наука, 1987. – 207 с.
7. Банержи А. Медицинская статистика понятным языком: вводный курс // М.: Практическая медицина. – 2007. – Т. 287.
8. Баранов В. и др. (ред.). Генетический паспорт—основа индивидуальной и предиктивной медицины. – Litres, 2014.
9. Баранов В. С. Персонафицированная медицина: ожидания, разочарования, надежды // Вестник РАМН. – 2011. – № 9. – С. 27-35.
10. Барер Г. М. Болезни пародонта (клиника, диагностика и лечение) / Г. М. Барер, Т. И. Лемецкая. – Москва, 1996. – 85 с.

11. Барер Г. М. Реакция тканей пародонта на пломбирование в эксперименте дефекта корня зуба различными материалами / Г. М. Барер, А. И. Воложин, М. И. Бойков // Стоматология. – 2007. – Т. 86, №. 1. – С. 14-17.
12. Безрукова И. В. Агрессивные формы пародонтита / И. В. Безрукова, А. И. Грудянов. – Москва : МИА, 2002. – 127 с.
13. Безрукова И. В. Клинико-лабораторная оценка эффективности применения в комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта комбинированного препарата цифран СТ / И. В. Безрукова, Н. А. Дмитриева, А. Н. Герчиков // Стоматология. – 2005. – № 1. – С. 1-4.
14. Безрукова И. В. Концепция поддерживающей терапии при воспалительных заболеваниях пародонта с агрессивным характером течения // Стоматология. – 2004. – № 3. – С. 22-25.
15. Беляева О. В. Влияние комплексной терапии на показатели местного иммунитета больных пародонтитом / О. В. Беляева, Н. Н. Кеворков // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 4. – С. 34-37.
16. Бережная Н. М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, №. 2. – С. 26-34.
17. Болезни пародонта / А. С. Григорьян [и др.]. – Москва : МИА, 2004. – 287 с.
18. Борисова Е. Н. Социальные и клинические аспекты заболеваний пародонта у людей пожилого возраста / Е. Н. Борисова // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. – 2001. – Т. 4, № 2. – С. 31-36.
19. Боровский Е. В. Биология полости рта : монография / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев. – Москва : Мед. кн. ; Нижний Новгород : Изд-во НГМА, 2001. – 304 с.
20. Булкина Н. В. Новые возможности местной антибактериальной терапии воспалительных заболеваний пародонта на фоне патологии органов пищеварения / Н. В. Булкина, Л. Ю. Островская // Русский медицинский журнал. – 2007. – № 4. – С. 230-232.

21. Булкина Н. В. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. Особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита / Н. В. Булкина, В. М. Моргунова // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 2-2. – С. 415-420.
22. Бурягина Н. В. Хроническая оральная инфекция на фоне ишемической болезни сердца / Н. В. Бурягина // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 5-2. – С. 250-255.
23. Быков В. Л. Цитология и общая гистология / В. Л. Быков. – Санкт-Петербург : СОТИС, 2002. – 254 с.
24. Ван дер Бийль П. Взаимосвязь заболеваний пародонта и сердечно-сосудистой системы / П. ван дер Бийль // *Проблемы стоматологии*. – 2014. – № 6. – С. 4-8.
25. Введение в молекулярную медицину / под ред. М. А. Пальцева. – Москва : Медицина, 2004. – 496 с.
26. Взаимосвязь аллелей генов некоторых цитокинов со скоростью прогрессии и тяжестью пародонтита / О. А. Зорина [и др.] // *Стоматология для всех*. – 2011. – № 2. – С. 26–31.
27. Видовой состав анаэробной микрофлоры пародонтального кармана в зависимости от стадии пародонтита / Н. В. Зырянова [и др.] // *Стоматология*. – 2009. – Т. 88, № 4. – С. 43-47.
28. В-клеточные лимфоидные фолликулы слизистой оболочки десны при хроническом верхушечном периодонтите / И. В. Майбородин [и др.] // *Стоматология*. – 2009. – Т. 88, № 6. – С. 19-23.
29. Возможности использования генотипирования цитокинов с регулирующей воспалением активностью в качестве биологических маркеров прогноза эффективности терапии ревматоидного артрита / В. И. Коненков [и др.] // *Научно-практическая ревматология*. – 2010. – № 5. – С. 19-26.
30. Вольф Г. Ф. Пародонтология / Г. Ф. Вольф, Э. М. Ратейцхак, К. Ратейцхак; под ред. Г. М. Барера. – Москва : МЕДпресс-информ, 2008. – 548 с.

31. Встречаемость признаков поражения тканей пародонта и характер гигиены полости рта у детей и подростков Тверского региона / О. А. Гаврилова [и др.] // Верхневолжский медицинский журнал. – 2012. – Т. 10, № 1. – С. 29-32.
32. Гариб Ф. Ю. Взаимодействие патогенных бактерий с врожденными иммунными реакциями хозяина / Ф. Ю. Гариб, А. П. Ризопулу // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 3. – С. 581-596.
33. Гемонов В. В. Пародонт // Пародонтит / под ред. Л. А. Дмитриевой. – Москва : МЕДпресс-информ, 2007. – С. 18–38.
34. Гланц С. пер. с англ // М.: Практика. – 1998.
35. Горбатова Е. А. Топографические особенности отделов десны / Е. А. Горбатова // Пародонтология. – 2003. – № 4. – С. 19-20.
36. Горбачева И. А. Единство системных патогенетических механизмов при заболеваниях внутренних органов, ассоциированных с генерализованным пародонтитом / И. А. Горбачева, А. И. Кирсанов, Л. Ю. Орехова // Стоматология. – 2004. – № 3. – С. 6-11.
37. Горбачева И. А. Общесоматические аспекты патогенеза и лечения генерализованного пародонтита / И. А. Горбачева, А. И. Кирсанов, Л. Ю. Орехова // Стоматология. – 2001. – № 1. – С. 26-34.
38. Григорович Э. Ш. Механизмы иммунной регуляции персистенции воспалительного инфильтрата в тканях десны больных хроническим генерализованным пародонтитом / Э. Ш. Григорович, Д. С. Черкашин // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – № 1. – С. 86-89.
39. Григорьян А. С. Микроорганизмы в заболеваниях пародонта: экология, патогенез, диагностика / А. С. Григорьян, С. Ю. Рахметова, Н. В. Зырянова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 56 с.
40. Григорьян А. С. Морфогенез ранних стадий воспалительных заболеваний пародонта / А. С. Григорьян, О. А. Фролова, Е. В. Иванова // Стоматология. – 2002. – № 1. – С. 19-25.

41. Григорьян А. С. Морфофункциональные основы клинической симптоматики воспалительных заболеваний пародонта / А. С. Григорьян, О. А. Фролова // Стоматология. – 2006. – № 3. – С. 11-17.
42. Громова А. Ю., Симбирцев А. С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека / А. Ю. Громова, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 3-12.
43. Грудянов А. И. Воспалительные заболевания пародонта как фактор риска развития патологии сердечно-сосудистой системы (обзор литературы) / А. И. Грудянов, В. В. Овчинникова // Стоматология. – 2007. – Т. 86, № 5. – С. 76-78.
44. Грудянов А. И. Заболевания пародонта / А. И. Грудянов. – Москва : МИА, 2009. – 328 с.
45. Грудянов А. И. Основные направления научных исследований и новые клинические методики в области пародонтологии в России и за рубежом / А. И. Грудянов // Маэстро стоматологии. – 2008. – № 4. – С. 32.
46. Демьянов А. В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 20-35.
47. Дмитриева Л. А. Клинико-экспериментальное обоснование применения антиоксидантов как средств патогенетической терапии в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита (обзор литературы) / Л. А. Дмитриева, Е. П. Просвинова, В. В. Яснецов // Стоматологический форум. – 2003. – № 2. – С. 31.
48. Дмитриева Л. А. Современные представления о роли микрофлоры в патогенезе заболеваний пародонта / Л. А. Дмитриева, А. Г. Крайнова // Пародонтология. – 2004. – № 1. – С. 8-15.
49. Доманова Е. Т. Аутоиммунная регуляция патогенеза хронического гингивита и пародонтита / Е. Т. Доманова, В. В. Зобнин, С. Н. Соловьев // Путь науки. – 2014. – Т. 2, № 9(9). – С. 104-105.

50. Железникова Г. Ф. Инфекция и иммунитет: стратегии обеих сторон / Г. Ф. Железникова // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 5-6. – С. 597-614.
51. Железникова Г. Ф. Роль цитокинов в патогенезе и диагностике инфекционных заболеваний / Г. Ф. Железникова // Инфекционные болезни. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 70-77.
52. Железникова Г. Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций / Г. Ф. Железникова // Цитокины и воспаление. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 10-17.
53. Заболевания пародонта / под общ. ред. Л. Ю. Ореховой. – Москва : Поли Медиа Пресс, 2004. – 432 с.
54. Заболевания пародонта : монография / под ред. Л. Ю. Ореховой. – Москва : Поли Медиа Пресс. – 2004. – 432 с.
55. Завгородняя Е. Г. Цитокины и их место в диагностике и лечении ряда заболеваний ЛОР-органов / Е. Г. Завгородняя // Вестник оториноларингологии. – 2008. – № 3. – С. 74-76.
56. Значение цитокинов в патогенезе воспалительных заболеваний толстой кишки у детей / С. В. Бельмер [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2003. – Т. 11, № 3. – С. 116-119.
57. Иванов В. С. Заболевания пародонта / В. С. Иванов. – Москва : МИА, 2001. – 296 с.
58. Иммунологические нарушения в патогенезе хронического генерализованного пародонтита / А. И. Воложин [и др.] // Стоматология. – 2005. – № 3. – С. 4-7.
59. Исследование соотношений основных цитокинов в крови онкологических больных и здоровых доноров / А. Р. Тугуз [и др.] // Иммунология. – 2003. – Т. 24, № 3. – С. 184 - 186.
60. Канкянян А. П. Болезни пародонта: новые подходы в этиологии, патогенезе, диагностике, профилактике и лечении / А. П. Канкянян, В. К. Леонтьев. – Ереван : Тигран Мец, 1998. – 360 с.

61. Кетлинский С. А. Цитокины : монография / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2008. – 552 с.
62. Клеточные механизмы генерации иммунологической памяти / В. И. Селедцов [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 9-15.
63. Клинико-иммунологические и микробиологические параллели в течении хронического генерализованного пародонтита и язвенной болезни желудка / Л. Ю. Орехова [и др.] // Стоматология. - 2006. - № 6. - С. 22-26.
64. Клинико-метаболическая база данных по хроническому генерализованному пародонтиту / Э. М. Гильмияров [и др.] // Стоматология. – 2008. – Т. 87, № 5. – С. 23-26.
65. Клинико-морфологическая оценка состояния десны при воспалительных заболеваниях пародонта в динамике лечения / Э. Ш. Григорович [и др.] // Омский научный вестник. – 2006. – № 3 (37). – С. 242-245.
66. Конвенция о защите прав и достоинства человека в связи с использованием достижений биологии и медицины (конвенция о правах человека и биомедицине) // Российский бюллетень по правам человека. Вып. 10. – М. – 1998. – С. 19-24.
67. Коненков В. И. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов / В. И. Коненков, М. В. Смольникова // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 1-2. – С. 11-28.
68. Кулаков А. А. Генетические факторы в развитии заболеваний пародонта / А. А. Кулаков, О. А. Зорина, О. А. Борискина // Российский стоматологический журнал. – 2011. – № 1. – С. 48-52.
69. Маев И. В. Кишечная метаплазия слизистой оболочки желудка в практике гастроэнтеролога: современный взгляд на проблему / И. В. Маев, О. В. Зайратьянц, Ю. А. Кучерявый // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – № 4. – С. 38-47.

70. Маев И. В. Сравнительная эффективность тройной антихеликобактерной терапии I линии при использовании препаратов пантопразола и омепразола / И. В. Маев, Т. С. Оганесян, Ю. А. Кучерявый // Лечащий врач. – 2010. – № 2. – С. 2-7.
71. Макарова В. И. Роль цитокинов в реализации воспалительной реакции / В. И. Макарова, А. И. Макаров // Экология человека. – 2008. – № 5. – С. 31-35.
72. Максимовский Ю. М. Терапевтическая стоматология / Ю. М. Максимовский, Л. Н. Максимовская, Л. Ю. Орехова. – Москва : Медицина, 2002. – 640 с.
73. Масумова В. В. Исследование морфометрических показателей дендритных клеток слизистой оболочки десны при хроническом катаральном гингивите и хроническом пародонтите легкой степени / В. В. Масумова, Н. В. Булкина // Российский стоматологический журнал. – 2009. – № 5. – С. 19.
74. Мащенко И. С. Обмен цитокинов у больных генерализованным пародонтитом / И. С. Мащенко // Современная стоматология. – 2004. – № 1. – С. 73-75.
75. Маянский А. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А. Н. Маянский, Д. Н. Маянский. — Новосибирск : Наука, 1983. – 256 с.
76. Медик, В. А. Статистика в медицине и биологии : рук-во. В 2-х томах / В. А. Медик, М. С. Токмачев, Б. Б. Фишман : под ред. Ю. М. Комарова. Т. 1. Теоретическая статистика. – М.: Медицина. – 2000. – 412 с.
77. Медик, В. А. Статистика в медицине и биологии : рук-во. В 2-х томах / В. А. Медик, М. С. Токмачев, Б. Б. Фишман : под ред. Ю. М. Комарова. Т. 2. Прикладная статистика здоровья. – М.: Медицина. – 2001. – 352 с.
78. Международные этические правила для биомедицинских исследований с включением человека. Совет Международных организаций по медицинской науке (CIOMS), Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) / Женева. – 1993. – 34 с.

79. Микробные маркеры заболеваний пародонта и их практическая значимость в стоматологии / А. Б. Чухловин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144, № 10. – С. 427-431.
80. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации костной ткани челюстей / Д. В. Усиков [и др.]. – Санкт-Петербург : Нормдеиздат, 2014. – 144 с. О9
81. Мюллер Х. П. Пародонтология / Х. П. Мюллер. – Москва : ГалДент, 2004. – 256 с.
82. Николаева Е. Н. Алгоритм диагностики генерализованного пародонтита на основе микробиологических и иммуногенетических показателей / Е. Н. Николаева, В. Н. Царев, М. Б. Лагутин // Стоматолог. – 2007. – № 8. – С. 35-40.
83. Окушко В. Р. Системная концепция пародонтита / В. Р. Окушко // Новое в стоматологии. – 2002. – № 8. – С. 14-19.
84. Орехова Л. Ю. Показатели клеточной сенсibilизации при воспалительных заболеваниях пародонта / Л. Ю. Орехова, М. Я. Левин // Новое в стоматологии. – 1998. – № 7. – С. 71-74.
85. Оценка амфихиральной природы распространения пародонтопатогенных бактерий у больных хроническим генерализованным пародонтитом / В. Н. Царев [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 29-31.
86. Пальцев М. А. Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов, С. Е. Северин. – Москва : Медицина, 2003. – 288 с.
87. Пальцев М. А. Персонифицированная медицина // Наука в России. – 2011. – Т. 1. – С. 12-7.
88. Пальцев М. А., Белушкина Н. Н. Трансляционная медицина—новый этап развития молекулярной медицины // Молекулярная медицина. – 2012. – №. 4. – С. 2-6.
89. Перова М. Д. Молекулярные аспекты патогенеза воспалительно деструктивных заболеваний пародонта / М. Д. Перова, М. Г. Шубич // Архив патологии. – 2006. – Т. 68, № 5. – С. 59-63.

90. Перова М. Д. Открытие нейтрофильных внеклеточных ловушек новый этап в изучении морфогенеза и функций нейтрофилов / М. Д. Перова, М. Г. Шубич // Морфология. – 2011. – Т. 139, № 3. – С. 89-96.
91. Пичугина Л. М. Иммунотропная терапия пародонтита у больных с хроническими вирусными и бактериальными инфекциям / Л. М. Пичугина // Стоматология. – 2010. – № 3. – С. 20-22.
92. Платонов А. Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. – М. : Издательство РАМН, 2000.
93. Полиморфизм генов IL-1 β , антагониста его рецепторов и фенотип воспалительной реакции слизистой оболочки желудка при хеликобактерной инфекции / А. В. Кононов [и др.] // Молекулярная медицина. – 2010. – № 1. – С. 42-45.
94. Полиморфизм промотерного региона генов IL-4, IL-6 и IL-10 у пациенток с раком молочной железы / А. В. Шевченко [и др.] // Медицинская иммунология. – 2009. – № 11. – С. 21-28.
95. Помыткина Т. Е. Цитокины сыворотки крови у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, работающих на химическом предприятии / Т. Е. Помыткина // Казанский медицинский журнал. – 2009. – Т. 90, № 6. – С. 893-897.
96. Потрохова Е. А. Морфологическая характеристика слизистой оболочки желудка подростков при инфицировании различными штаммами *helicobacter pylori* / Е. А. Потрохова, Е. Г. Поморгайло // Сибирское медицинское обозрение. – 2014. – № 3 (87). – С. 33-38.
97. Почтаренко В. А. Генетический статус человека как фактор развития воспалительных заболеваний пародонта / В. А. Почтаренко, О. О. Янушевич, К. Приор // Пародонтология. – 2005. – № 4. – С. 8-11.
98. Правила клинической практики в Российской Федерации. Утверждены Приказом Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003 г., № 266. URL: // <http://webmed.irkutsk.ru/doc/in1.htm>. (дата обращения 30.12.2013)

99. Проффит У. Р. Современная ортодонтия / У. Р. Проффит ; под ред. Л. С. Персина. – Москва : МЕДпресс-информ, 2008. – 560 с.
100. Распространенность заболеваний пародонта у жителей г. Пензы / П. В. Иванов [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 183-184.
101. Ревазова З.Э, Вагнер В.Д., Дмитриева Л.А. Полнота обследования стоматологических больных при пародонтите/ З. Э. Ревазова, В. Д. Вагнер, Л.А. Дмитриева // Институт стоматологии. – М., 2013, - №2(59), -С. 12-14.
102. Ревазова З.Э. История пародонтологии (обзор литературы)/ З. Э. Ревазова, Л. Е. Смирнова, В. Д. Вагнер // Дентал Юг. – М., 2013, - №7(115), - С. 8-11.
103. Ревазова З.Э. Ошибки и осложнения в результате несвоевременной или неправильной диагностики и лечения больных с заболеваниями пародонта / З.Э. Ревазова, В.Д. Вагнер // Пародонтология. - 2013. - № 3 (68). - С. 23-29.
104. Ревазова З.Э. Подходы к профессиональной подготовке специалиста, оказывающего помощь пациентам с заболеваниями пародонта / З. Э.Ревазова, В. Д. Вагнер, Л. А. Дмитриева // Стоматология для всех. – М., 2013, - №1(62), -С. 56-60.
105. Ревазова З.Э. Проведение врачами-стоматологами профилактических мероприятий при лечении заболеваний пародонта/ З. Э. Ревазова, В. Д. Вагнер //Dental Forum, 2014, №1.- С. 32-36
106. Ревазова З.Э., Отношение врачей - стоматологов к удалению зубных отложений при лечении заболеваний пародонта/ З. Э. Ревазова, В. Д. Вагнер //Российская стоматология, 2014, №3. - С. 23-25
107. Рожнова Е. Полость рта как локальная экологическая система / Е. Рожнова // Стоматология. – 2008. – Т. 87, № 3. – С. 68-75.
108. Роль про- и противовоспалительных цитокинов в иммунной адаптации новорожденных детей / Н. Н. Володин [и др.] // International Journal on Immunorehabilitation. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 175-185.

109. Самойлов К. А. Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров десен больных с хроническим катаральным гингивитом на фоне дисплазии соединительной ткани / К. О. Самойлов, В. А. Шкурупий, Г. Н. Верещагина // *Стоматология*. - 2004. - № 4. - С. 9-12.
110. Симбирцев А. С. Роль полиморфизма генов цитокинов в регуляции воспаления и иммунитета / А. С. Симбирцев, А. Ю. Громова, А. В. Рыдловская // *Медицинский академический журнал*. – 2006. – Т. 6, № 1. – С. 144-150.
111. 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.
112. Симбирцев А. С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // *Цитокины и воспаление*. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9-16.
113. Симбирцев А. С. Цитокины: классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // *Цитокины и воспаление*. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16-22.
114. Стародубов, В. И. Клиническое управление: теория и практика / В. И. Стародубов, Т. К. Луговкина. – М.: Медицина. – 2003. – 192 с.
115. Степанов В. А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонафицированная медицина // *Acta Naturae* (русскоязычная версия). – 2010. – Т. 2. – № 4.
116. Тец В. В. Роль микрофлоры полости рта в развитии заболеваний человека / В. В. Тец // *Стоматология*. – 2008. – Т. 87, № 3. – С. 76-80.
117. Фролова О. А. Актуальные задачи развития диагностических методов в клинике пародонтологии / О. А. Фролова // *Стоматология*. – 2004. – № 4. – С. 22-24.
118. Хельсинкская Декларация Всемирной Медицинской Ассоциации: рекомендации для врачей по проведению биомедицинских исследований на людях (1964, с дополнениями 1975, 1983, 1996, 2000 годов) / Хельсинки. – 1964. – 28 с.

119. Царев В. Н. Антимикробная терапия при заболеваниях пародонта / В. Н. Царев, Р. В. Ушаков. – Москва : МИА, 2003. – 156 с.
120. Цепов Л. М. Диагностика и лечение заболеваний пародонта : монография / Л. М. Цепов, А. И. Николаев. – Москва : МЕДпресс-информ, 2002. – 188 с.
121. Цимбалистов А. В. Патофизиологические аспекты развития сочетанной патологии полости рта и желудочно-кишечного тракта / А. В. Цимбалистов, Н. С. Робакидзе // Стоматология для всех. – 2005. – № 1. – С. 28-34.
122. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией / А. А. Останин [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 38-45.
123. Чередеев А. Н. CD-маркеры в практике клинико-диагностических лабораторий / А. Н. Чередеев, Н. К. Горлина, И. Г. Козлов // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 6. – С. 25-32.
124. Черкашин Д. С. Оценка эффективности консервативного лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом / Д. С. Черкашин, Э. Ш. Григорович, Р. В. Городилов // Институт стоматологии. – 2009. – № 1. – С. – 68-69.
125. Швыдченко И. Н. Нейтрофильные гранулоциты как источник цитокинов семейства интерлейкина 1 / И. Н. Швыдченко // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11, № 1. – С. 17-25.
126. Шевченко А. В. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и TNF- α европеоидного населения Западной Сибири / А. В. Шевченко, О. В. Голованова, В. И. Коненков // Иммунология. – 2010. – Т. 31, № 4. – С. 176-181.
127. Шиманская А. Г. Морфологические методы и экспертный подход при верификации атрофии слизистой оболочки желудка в биопсийной диагностике атрофического гастрита // Молодой ученый. – 2012. – № 4. – С. 496-505.

128. Шинкевич В.И. Роль клеточных факторов иммунитета в ремоделировании тканей десны при хроническом генерализованном пародонтите / В. И. Шинкевич, И. П. Кайдашев // *Стоматология*. – 2012. – Т. 91, № 1. – С. 23-27.
129. Шмагель К. В. Современные взгляды на иммунологию пародонтита / К. В. Шмагель, О. В. Беляева, В. А. Черешнев // *Стоматология*. – 2003. – № 1. – С. 61-64.
130. Штыгашева О. В. Роль иммунорегуляторных цитокинов в патогенезе хронического гастрита и язвенной болезни, поиск предикторов заболеваний / О. В. Штыгашева, Е. С. Агеева, В. М. Иптышев // *Сибирский медицинский журнал (г. Иркутск)*. – 2011. – Т. 100, № 1. – С. 88-90.
131. Шубич М. Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса / М. Г. Шубич, М. Г. Авдеева // *Архив патологии*. – 1997. – Т. 59, № 2. – С. 3-8.
132. Эпидемиологическое исследование распространенности периодонтопатогенной микрофлоры полости рта у населения России / А. М. Соловьева [и др.] // *Стоматология*. – 2005. – № 5. – С. 14-20.
133. Эффективность современной терапии заболеваний тканей пародонта / Г. Г. Манашев [и др.] // *Сибирское медицинское обозрение*. – 2012. – Т. 77, № 5. – С. 5-11.
134. Эффективность эрадикации *Helicobacter pylori* у больных язвенной болезнью в зависимости от полиморфизма гена IL-1 β -511 / И. В. Маев [и др.] // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2008. – Т. 18, № 6. – С. 27-32.
135. Юдина Н. А. Контроль биопленки в современной стратегии профилактики и лечения стоматологических заболеваний / Н. А. Юдина, А. Ю. Курочкина // *Стоматология*. – 2009. – № 3. – С. 77-81.
136. Юнкеров, В. И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В. И. Юнкеров, С. Г. Григорьев. – СПб.: ВМедА. – 2002. – 266 с.

137. Янович С. В. и др. Роль иммунной системы в регуляции физиологической и репаративной регенерации забарьерных органов: этап 3. – 2011.
138. Янушевич О. О. Современные организационные подходы к обеспечению качества стоматологической помощи / О. О. Янушевич, В. М. Гринин // Российская стоматология. – 2009. – № 1. – С. 5-8.
139. A genomic and proteomic analysis of activation of the human neutrophil by lipopolysaccharide and its mediation by p38 mitogen-activated protein kinase / M. B. Fessler [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2002. – Vol. 277, № 35. – P. 31291-31302.
140. A molecular defect in intracellular lipid signaling in human neutrophils in localized aggressive periodontal tissue damage / K. Gronert [et al.] // The Journal of Immunology. – 2004. – Vol. 172, № 3. – P. 1856-1861.
141. A peptide based on the complementarity determining region 1 of a human monoclonal autoantibody ameliorates spontaneous and induced lupus manifestations in correlation with cytokine immunomodulation / D. Luger [et al.] // Journal of clinical immunology. – 2004. – Vol. 24, № 6. – P. 579-590.
142. A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma / J. C. Machado [et al.] // Gastroenterology. – 2003. – Vol. 125, № 2. – P. 364-371.
143. A reusable flow-through polymerase chain reaction instrument for the continuous monitoring of infectious biological agents / P. Belgrader [et al.] // Analytical chemistry. – 2003. – Vol. 75, № 14. – P. 3446-3450.
144. A small subpopulation of blastospores in *Candida albicans* biofilms exhibit resistance to amphotericin B associated with differential regulation of ergosterol and β -1, 6-glucan pathway genes / P. D. Khot [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2006. – Vol. 50, № 11. – P. 3708-3716.
145. A type 2 response in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell cultures from periodontitis patients / S. J. Fokkema [et al.] // Clinical & Experimental Immunology. – 2002. – Vol. 127, № 2. – P. 374-378.

146. Acquisition and loss of *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Prevotella intermedia* over a 5-year period: effect of a triclosan/copolymer dentifrice / M. P. Cullinan [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2003. – Vol. 30, № 6. – P. 532-541.
147. Actin reorganization and morphological changes in human neutrophils stimulated by TNF, GM-CSF, and G-CSF: the role of MAP kinases / H. Kutsuna [et al.] // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. – 2004. – Vol. 286, № 1. – P. C55-C64.
148. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide-mediated experimental bone loss model for aggressive periodontitis / J. E. Rogers [et al.] // *Journal of periodontology*. – 2007. – Vol. 78, № 3. – P. 550-558.
149. *Actinomyces naeslundii* in initial dental biofilm formation / I. Dige [et al.] // *Microbiology*. – 2009. – Vol. 155, № 7. – P. 2116-2126.
150. Activation of human gingival epithelial cells by cell-surface components of black-pigmented bacteria: augmentation of production of interleukin-8, granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and expression of intercellular adhesion molecule 1 / A. Sugiyama [et al.] // *Journal of medical microbiology*. – 2002. – Vol. 51, № 1. – P. 27-33.
151. Activation of IKK by TNF α requires site-specific ubiquitination of RIP1 and polyubiquitin binding by NEMO / C. K. Ea [et al.] // *Molecular cell*. – 2006. – Vol. 22, № 2. – P. 245-257.
152. Activation of the neutrophil respiratory burst by plasma from periodontitis patients is mediated by pro-inflammatory cytokines / I. H. K. Dias [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2011. – Vol. 38, № 1. – P. 1-7.
153. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions / R. C. Page [et al.] // *Periodontology* 2000. – 1997. – Vol. 14, № 1. – P. 216-248.
154. Age-and genderdependent changes in circulating concentrations of TNF-alpha, soluble TNFR-1 and sulfated glycosaminoglycan in healthy people / K.

- Komosinska-Vassev [et al.] // *Clin Chem Lab Med.* – 2011. – Vol. 49, № 1. – P. 121-127.
155. Akira S. Innate immunity to pathogens: diversity in receptors for microbial recognition / S. Akira // *Immunological reviews.* – 2009. – Vol. 227, № 1. – P. 5-8.
156. Al Kawas S. Potential uses of human salivary protein and peptide analysis in the diagnosis of disease / S. Al Kawas, Z. H. A. Rahim, D. B. Ferguson // *Archives of oral biology.* – 2012. – Vol. 57, № 1. – P. 1-9.
157. Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations / F. F. Gonzalez-Galarza [et al.] // *Nucleic acids research.* – 2011. – Vol. 39, suppl. № 1. – P. D913-D919.
158. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist / I. Aksentijevich [et al.] // *New England Journal of Medicine.* – 2009. – Vol. 360, № 23. – P. 2426-2437.
159. Antimicrobial periodontal treatment decreases serum C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, but not adiponectin levels in patients with chronic periodontitis / Y. Iwamoto [et al.] // *Journal of periodontology.* – 2003. – Vol. 74, № 8. – P. 1231-1236.
160. Armitage G. C. Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis / G. C. Armitage, M. P. Cullinan // *Periodontology 2010.* – Vol. 53, № 1. – P. 12-27.
161. Assessment of single nucleotide polymorphism at IL-1A+ 4845 and IL-1B+ 3954 as genetic susceptibility test for chronic periodontitis in Maharashtrian ethnicity / A. A. Agrawal [et al.] // *Journal of periodontology.* – 2006. – Vol. 77, № 9. – P. 1515-1521.
162. Association analysis of IL10, TNF- α , and IL23R-IL12RB2 SNPs with Behçet's disease risk in Western Algeria / O. K. D. Naib [et al.] // *Frontiers in immunology.* – 2013. – Vol. 4. – P. 110
163. Association between coinfection of *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* and periodontal tissue

- destruction in chronic periodontitis / L. L. Chen [et al.] // Chinese medical journal. – 2005. – Vol. 118, № 11. – P. 915-921.
164. Association between interleukin 4 gene intron 3 VNTR polymorphism and recurrent aphthous stomatitis in a cohort of Turkish patients / G. Kalkan [et al.] // Gene. – 2013. – Vol. 527, № 1. – P. 207-210.
165. Association of the- 159C← T polymorphism in the CD14 promoter with variations in serum lipoproteins in healthy subjects / J. A. Hubacek [et al.] // Blood coagulation & fibrinolysis. – 2004. – Vol. 15, № 4. – P. 365-366.
166. Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study / J. P. Mira [et al.] // JAMA. – 1999. – Vol. 282, № 6. – P. 561-568.
167. Attenuation of Pseudomonas aeruginosa virulence by quorum sensing inhibitors / M. Hentzer [et al.] // The EMBO journal. – 2003. – Vol. 22, № 15. – P. 3803-3815.
168. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease / T. Kawai [et al.] // The American journal of pathology. – 2006. – Vol. 169, № 3. – P. 987-998.
169. B-1a cells in experimental gingivitis in humans / M. Donati [et al.] // Journal of periodontology. – 2009. – Vol. 80, № 7. – P. 1141-1145.
170. Bacterial interactions in dental biofilm development / K. Hojo [et al.] // Journal of dental research. – 2009. – Vol. 88, № 11. – P. 982-990.
171. Bacterial-responsive B lymphocytes induce periodontal bone resorption / X. Han [et al.] // The Journal of Immunology. – 2006. – Vol. 176, № 1. – P. 625-631.
172. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions / T. Honda [et al.] // Clinical & Experimental Immunology. – 2006. – Vol. 144, № 1. – P. 35-40.
173. Bartold P. M. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis / P. M. Bartold, M. D. Cantley, D. R. Haynes // Periodontology 2000. – 2010. – Vol. 53, № 1. – P. 55-69.

174. Batista A. C. Failure of nitric oxide production by macrophages and decrease in CD4+ T cells in oral paracoccidioidomycosis: possible mechanisms that permit local fungal multiplication / A. C. Batista, C. T. Soares, V. S. Lara // *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. – 2005. – Vol. 47, № 5. – P. 267-273.
175. Berglundh T. Aspects of adaptive host response in periodontitis / T. Berglundh, M. Donati // *Journal of clinical periodontology*. – 2005. – Vol. 32, № s6. – P. 87-107.
176. Berglundh T. B cells in periodontitis—friends or enemies? / T. Berglundh, M. Donati, N. Zitzmann // *Periodontology 2000*. – 2007. – Vol. 45, № 1. – P. 51-66.
177. Berglundh T. Donati M. Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? / T. Berglundh, N. U. Zitzmann, M. Donati // *Journal of clinical periodontology*. – 2011. – Vol. 38, № s11. – P. 188-202.
178. Biofilms in chronic infections—a matter of opportunity—monospecies biofilms in multispecies infections / M. Burmølle [et al.] // *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. – 2010. – Vol. 59, № 3. – P. 324-336.
179. Blount M. In vitro degradation of the inner root sheath in human hair follicles lacking sebaceous glands / M. Blount, S. Goff, P. Slusarewicz // *British Journal of Dermatology*. – 2008. – Vol. 158, № 1. – P. 22-30.
180. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E2—dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production / K. Németh [et al.] // *Nature medicine*. – 2009. – Vol. 15, № 1. – P. 42-49.
181. Borrell L. N. Analytical epidemiology of periodontitis / L. N. Borrell, P. N. Papapanou // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2005. – Vol. 32, № s6. – P. 132-158.
182. Bosshardt D. D. The junctional epithelium: from health to disease / D. D. Bosshardt, N. P. Lang // *Journal of dental research*. – 2005. – Vol. 84, № 1. – P. 9-20.
183. Boyce B. F. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin / B. F. Boyce, L. Xing // *Arthritis Research and Therapy*. – 2007. – Vol. 9, № 1. – P. S1.

184. Brumble L. M. Infections of the Oral Cavity, Neck, and Head / L. M. Brumble // Mayo Clinic Infectious Diseases Board Review. – 2011. – P. 244.
185. Cell activation by Porphyromonas gingivalis lipid A molecule through Toll-like receptor 4-and myeloid differentiation factor 88-dependent signaling pathway / T. Ogawa [et al.] // International immunology. – 2002. – Vol. 14, № 11. – P. 1325-1332.
186. Changes in gingival crevicular fluid interleukin-4 and interferon-gamma in patients with chronic periodontitis before and after periodontal initial therapy / C. C. Tsai [et al.] // The Kaohsiung journal of medical sciences. – 2007. – Vol. 23, № 1. – P. 1-7.
187. Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells / N. Silva [et al.] // Journal of clinical periodontology. – 2008. – Vol. 35, № 3. – P. 206-214.
188. Cisterna C. Recuento de Células Infiltrantes CD4+, CD8+ y CD19+ en el Tejido Gingival de Individuos con Periodontitis Crónica / C. Cisterna, O. Rivera, N. Dutzan // Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral. – 2008. – Vol. 1, № 2. – P. 57-60.
189. Clinical and immunological findings of two siblings in a family with generalized aggressive periodontitis / G. Aren [et al.] // Journal of dentistry for children. – 2003. – Vol. 70, № 3. – P. 266-271.
190. Clinical and microbiological patterns of adults with periodontitis / K. S. Kornman [et al.] // Journal of periodontology. – 1991. – Vol. 62, № 10. – P. 634-642.
191. Clinical Consequences of IL-1 Genotype on Early Implant Failures in Patients under Periodontal Maintenance / H. Jansson [et al.] // Clinical implant dentistry and related research. – 2005. – Vol. 7, № 1. – P. 51-59.
192. Clinical responses to subgingival application of a metronidazole 25% gel compared to the effect of subgingival scaling in adult periodontitis / J. Ainamo [et al.] // Journal of clinical periodontology. – 1992. – Vol. 19, № 9. – P. 723-729.

193. Coaggregation between and among human intestinal and oral bacteria / R. G. Ledder [et al.] // *FEMS microbiology ecology*. – 2008. – Vol. 66, № 3. – P. 630-636.
194. Cochran D. L. Inflammation and bone loss in periodontal disease / D. L. Cochran // *Journal of periodontology*. – 2008. – Vol. 79, № 8S. – P. 1569-1576.
195. Collins F. S. Implications of the Human Genome Project for medical science / F. S. Collins, V. A. McKusick // *Jama*. – 2001. – Vol. 285, № 5. – P. 540-544.
196. Commensal bacteria influence innate status within gingival tissues: a pilot study / D. R. Dixon [et al.] // *Journal of periodontology*. – 2004. – Vol. 75, № 11. – P. 1486-1492.
197. Comparison of interleukin-1 genotypes in two populations with aggressive periodontitis / J. R. Gonzales [et al.] // *European journal of oral sciences*. – 2003. – Vol. 111, № 5. – P. 395-399.
198. Comparison of the oral bacterial flora in saliva from a healthy subject and two periodontitis patients by sequence analysis of 16S rDNA libraries / M. Sakamoto [et al.] // *Microbiology and immunology*. – 2000. – Vol. 44, № 8. – P. 643-652.
199. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF therapy / M. R. Ehrenstein [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 2004. – Vol. 200, № 3. – P. 277-285.
200. Conde M. C. Vesicles of *P-gingivalis* stimulate cytokine production via integrin and CD14 pathways / M. C. Conde, S. R. Yan, M. J. Novak // *Journal of dental research*. – 1619 duke st, alexandria, va 22314 usa : amer assoc dental research. – 2000. – Vol. 79. – P. 391-391.
201. Construction and analysis of luxCDABE-based plasmid sensors for investigating N-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing / M. K. Winson [et al.] // *FEMS microbiology letters*. – 1998. – Vol. 163, № 2. – P. 185-192.
202. Cutler C. W. Dendritic cells at the oral mucosal interface / C. W. Cutler, R. Jotwani // *Journal of dental research*. – 2006. – Vol. 85, № 8. – P. 678-689.

203. Cutler C. W. Oral mucosal dendritic cells and periodontitis: many sides of the same coin with new twists / C. W. Cutler, Y. T. A. Teng // *Periodontology* 2000. – 2007. – Vol. 45, № 1. – P. 35-50.
204. Cytokine expression in rat molar gingival periodontal tissues after topical application of lipopolysaccharide / M. Miyauchi [et al.] // *Histochemistry and cell biology*. – 2001. – Vol. 116, № 1. – P. 57-62.
205. Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans / T. P. Garlet [et al.] // *European journal of oral sciences*. – 2007. – T. 115, № 5. – P. 355-362.
206. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases / J. Bidwell [et al.] — 2003. 103
207. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 2 / N. Haukim [et al.] // *Genes and immunity*. – 2002. – Vol. 3, № 6. – P. 313-330.
208. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls / G. K. Nikolopoulos [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2008. – Vol. 35, № 9. – P. 754-767.
209. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection / R. Rad [et al.] // *Gut*. – 2004. – Vol. 53, № 8. – P. 1082-1089.
210. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors / G. P. Garlet [et al.] // *Oral microbiology and immunology*. – 2006. – Vol. 21, № 1. – P. 12-20.
211. Cytokine profiles of T-lymphocytes from gingival tissues with pathological pocketing / O. Takeichi [et al.] // *Journal of dental research*. – 2000. – Vol. 79, № 8. – P. 1548-1555.
212. Cytokines that promote periodontal tissue destruction / D. Graves // *Journal of periodontology*. – 2008. – Vol. 79, № 8S. – P. 1585-1591.

213. Darveau R. P. Porphyromonas gingivalis as a potential community activist for disease / R. P. Darveau, G. Hajishengallis, M. A. Curtis // Journal of dental research. – 2012. – P. 0022034512453589.
214. Decreased interleukin-1 β and elastase in the gingival crevicular fluid of individuals undergoing anti-inflammatory treatment for rheumatoid arthritis / L. A. Miranda [et al.] // Journal of periodontology. – 2007. – Vol. 78, № 8. – P. 1612-1619.
215. Delima A. J. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid / A. J. Delima, T. E. Van Dyke // Periodontology 2000. – 2003. – Vol. 31, № 1. – P. 55-76.
216. DeQueiroz G. A. Antimicrobial activity and effectiveness of a combination of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide in killing and removing Pseudomonas aeruginosa biofilms from surfaces / G. A. DeQueiroz, D. F. Day // Journal of applied microbiology. – 2007. – Vol. 103, № 4. – P. 794-802.
217. Detection of fusobacterium nucleatum and fadA adhesin gene in patients with orthodontic gingivitis and non-orthodontic periodontal inflammation / P. Liu [et al.] // PloS one. – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. e85280.
218. Diabetes in the dental office: using NHANES III to estimate the probability of undiagnosed disease / L. N. Borrell [et al.] // Journal of periodontal research. – 2007. – Vol. 42, № 6. – P. 559-565.
219. DiAngelis A. J. Dental caries and periodontal disease in an Indochinese refugee population / A. J. DiAngelis, A. J. Rojas // Journal of dental research. – 1992. – Vol. 61, № 11. – P. 1233-1235.
220. Differential patterns of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin expression in human periapical granulomas: possible association with progressive or stable nature of the lesions / R. Menezes [et al.] // Journal of endodontics. – 2008. – Vol. 34, № 8. – P. 932-938.
221. Distinct roles of class I and class III phosphatidylinositol 3-kinases in phagosome formation and maturation / O. V. Vieira [et al.] // The Journal of cell biology. – 2001. – Vol. 155, № 1. – P. 19-26.

222. Dixon D. R. Modulation of the innate immune response within the periodontium / D. R. Dixon, B. W. Bainbridge, R. P. Darveau / *Periodontology* 2000. – 2004. – Vol. 35, № 1. – P. 53-74.
223. Do interleukin 1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? / Rogers [et al.] // *J. Periodont. Res.* – 2002. – Vol. 37. – P. 37-41.
224. Donlan R. M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms / R. M. Donlan, J. W. Costerton // *Clinical microbiology reviews.* – 2002. – Vol. 15, № 2. – P. 167-193.
225. Dose-effect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease / P. Meisel [et al.] // *Journal of periodontology.* – 2004. – Vol. 75, № 2. – P. 236-242. 179
226. Drenkard E. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms / E. Drenkard // *Microbes and infection.* – 2003. – Vol. 5, № 13. – P. 1213-1219.
227. Duration and predictors of CD4 T-cell gains in patients who continue combination therapy despite detectable plasma viremia / S. G. Deeks [et al.] // *Aids.* – 2002. – Vol. 16, № 2. – P. 201-207.
228. Effects of TNF α and prostaglandin E2 on the expression of MMPs in human periodontal ligament fibroblasts / M. Nishikawa [et al.] // *Journal of periodontal research.* – 2002. – Vol. 37, № 3. – P. 167-176.
229. Endocannabinoids regulate interneuron migration and morphogenesis by transactivating the TrkB receptor / P. Berghuis [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2005. – Vol. 102, № 52. – P. 19115-19120.
230. Estrogen deficiency induces bone loss by enhancing T-cell production of TNF- α / S. Cenci [et al.] // *Journal of Clinical Investigation.* – 2000. – Vol. 106, № 10. – P. 1229.
231. Etzioni A. Leukocyte adhesion deficiencies: molecular basis, clinical findings, and therapeutic options / A. Etzioni // *Immune-Mediated Diseases.* – New York, 2007. – P. 51-60.

232. Evidence for cytokine mediation of disease expression in adults experimentally infected with influenza A virus / D. P. Skoner [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1999. – Vol. 180, № 1. – P. 10-14.
233. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis / B. S. Michalowicz. [et al.] // *Journal of periodontology.* – 2000. – Vol. 71, № 11. – P. 1699-1707.
234. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease / C. R. Cardoso [et al.] // *Oral microbiology and immunology.* – 2009. – Vol. 24, № 1. – P. 1-6.
235. Excessive tumor necrosis factor activation after infarction contributes to susceptibility of myocardial rupture and left ventricular dysfunction / M. Sun [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110, № 20. – P. 3221-3228.
236. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog / J. Lindhe [et al.] // *Clinical oral implants research.* – 1992. – Vol. 3, № 1. – P. 9-16.
237. *Francisella tularensis* inhibits Toll-like receptor-mediated activation of intracellular signalling and secretion of TNF- α and IL-1 from murine macrophages / M. Telepnev [et al.] // *Cellular microbiology.* – 2003. – Vol. 5, № 1. – P. 41-51.
238. Fujiwara N. Macrophages in inflammation / N. Fujiwara, K. Kobayashi // *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy.* – 2005. – Vol. 4, № 3. – P. 281-286.
239. Functional expression of neurokinin 1 receptors on mast cells induced by IL-4 and stem cell factor / H. P. M. Van der Kleij [et al.] // *The Journal of Immunology.* – 2003. – Vol. 171, № 4. – P. 2074-2079.
240. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis / P. M. Brett [et al.] // *Journal of Dental Research.* – 2005. – Vol. 84, № 12. – P. 1149-1153.
241. Garlet G. P. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints / G. P. Garlet // *Journal of dental research.* – 2010. – Vol. 89, № 12. – P. 1349-1363.

242. Gemmell E. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity / E. Gemmell, K. Yamazaki, G. J. Seymour // *Periodontology* 2000. – 2007. – Vol. 43, № 1. – P. 14-40.
243. Genco R. J. Host Responses in Periodontal Diseases: Current Concepts / R. J. Genco // *Journal of periodontology*. – 1992. – Vol. 63, № 4s. – P. 338-355.
244. Gene Polymorphisms and the Prevalence of Key Periodontal Pathogens / L. Nibali [et al.] // *J. Dent. Res.* – 2007. – Vol. 86, № 5. – P. 416-420.
245. Gene polymorphisms of TNF- α - 308 (G/A), IL-10- 1082 (G/A), IL-6- 174 (G/C) and IL-1Ra (VNTR) in Egyptian cases with type 1 diabetes mellitus / A. Settin [et al.] // *Autoimmunity*. – 2009. – Vol. 42, № 1. – P. 50-55.
246. Gene variants of the bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis / J. A. Hubacek [et al.] // *Critical care medicine*. – 2011. – Vol. 29, № 3. – P. 557-561.
247. Gene-gene interaction among cytokine polymorphisms influence susceptibility to aggressive periodontitis / C. Scapoli [et al.] // *Genes and immunity*. – 2011. – Vol. 12, № 6. – P. 473-480.
248. Genetic polymorphisms of the interleukin-1 gene and early marginal bone loss around endosseous dental implants / H. Shimpuku [et al.] // *Clinical oral implants research*. – 2003. – Vol. 14, № 4. – P. 423-429.
249. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases / J. Seok [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2013. – Vol. 110, № 9. – P. 3507-3512.
250. Gillespie M. T. Impact of cytokines and T lymphocytes upon osteoclast differentiation and function / M. T. Gillespie // *Arthritis Research and Therapy*. – 2007. – Vol. 9, № 2. – P. 103.
251. Gingival concentrations of interleukin-23 and-17 at healthy sites and at sites of clinical attachment loss / S. R. Lester [et al.] // *Journal of periodontology*. – 2007. – Vol. 78, № 8. – P. 1545-1550.

252. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis / B. Kurtis [et al.] // *Journal of periodontology*. – 2005. – Vol. 76, № 11. – P. 1849-1855.
253. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio / N. Bostanci [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2007. – Vol. 34, № 5. – P. 370-376.
254. Gingival tissue transcriptomes in experimental gingivitis / D. Jönsson [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2011. – Vol. 38, № 7. – P. 599-611.
255. Global oral health inequalities task group-periodontal disease / L. J. Jin [et al.] // *Advances in dental research*. – 2011. – Vol. 23, № 2. – P. 221-226.
256. González O. A. Oral infectious diseases: a potential risk factor for HIV virus recrudescence? / O. A. González, J. L. Ebersole, C. B. Huang // *Oral diseases*. – 2009. – Vol. 15, № 5. – P. 313-327.
257. Gonzalez-Angulo A. M., Hennessy B. T. J., Mills G. B. Future of personalized medicine in oncology: a systems biology approach // *Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – T. 28. – №. 16. – C. 2777-2783.
258. Granulocyte chemotactic protein 2 (gcp-2/cxcl6) complements interleukin-8 in periodontal disease / M. Kebschull [et al.] // *Journal of periodontal research*. – 2009. – Vol. 44, № 4. – P. 465-471.
259. Graves D. T. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction / D. T. Graves, D. Cochran // *Journal of periodontology*. – 2003. – Vol. 74, № 3. – P. 391-401.
260. Green J. C. The simplified oral hygiene index: A method for classifying oral hygiene status / J. C. Green, J. R. Vermillion // *J. Am. Dent. Assoc.* – 1960. – Vol. 61. – P. 172-175.
261. Hajeer A. H. TNF-alpha gene polymorphism: clinical and biological implications / A. H. Hajeer, I. V. Hutchinson // *Microsc Res Tech.* – 2000. – Vol. 50, № 3. – P. 216-228.

262. Hajishengallis E. Neutrophil homeostasis and periodontal health in children and adults / E. Hajishengallis, G. Hajishengallis // *Journal of dental research*. – 2014. – Vol. 93, № 3. – P. 231-237.
263. Hajishengallis G. Endogenous modulators of inflammatory cell recruitment / G. Hajishengallis, T. Chavakis // *Trends in immunology*. – 2013. – Vol. 34, № 1. – P. 1-6.
264. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response / G. Hajishengallis // *Trends in immunology*. – 2014. – Vol. 35, № 1. – P. 3-11.
265. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response / G. Hajishengallis // *Trends in immunology*. – 2014. – Vol. 35, № 1. – P. 3-11.
266. Hajishengallis G. The keystone-pathogen hypothesis / G. Hajishengallis, R. P. Darveau, M. A. Curtis // *Nature Reviews Microbiology*. – 2012. – Vol. 10, № 10. – P. 717-725.
267. Heitz-Mayfield L. J. A. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis / L. J. A. Heitz -Mayfield // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2005. – Vol. 32, № s6. – P. 196-209.
268. Henninger M. Untersuchung von Assoziationen der Mikrosatellitenpolymorphismen MICA-TM, MICB-Ca_2_A und C1_4_1 mit der chronischen Parodontitis - 2011.
269. Henry J. L. The economic and social impact of periodontal disease / J. L. Henry, J. C. Sinkford // *Public Health Reports*. – 1979. – Vol. 94, № 2. – P. 172.
270. Herring M. E. Periodontal disease and control of diabetes mellitus / M. E. Herring, S. K. Shah // *The Journal of the American Osteopathic Association*. – 2006. – Vol. 106, № 7. – P. 416-421.
271. History of treated periodontitis and smoking as risks for implant therapy / I. K. Karoussis [et al.] // *Int. J. Oral. Maxillofac Implants*. – 2009. – Vol. 24. – P. 39-68.

272. Hofbauer L. C. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases / L. C. Hofbauer, M. Schoppet // *Jama*. – 2004. – Vol. 292, № 4. – P. 490-495.
273. Hollegaard M. V. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3 / M. V. Hollegaard, J. L. Bidwell // *Genes and immunity*. – 2006. – Vol. 7, № 4. – P. 269-276.
274. Hood L., Friend S. H. Predictive, personalized, preventive, participatory (P4) cancer medicine // *Nature Reviews Clinical Oncology*. – 2011. – T. 8. – №. 3. – C. 184-187.
275. Hourii-Haddad Y. T-cell phenotype as a risk factor for periodontal disease / Y. Hourii-Haddad, A. Wilensky, L. Shapira // *Periodontology 2000*. – 2007. – Vol. 45, № 1. – P. 67-75.
276. Hull M. W. Indigenous microflora and innate immunity of the head and neck / M. W. Hull, A. W. Chow // *Infectious disease clinics of North America*. – 2007. – Vol. 21, № 2. – P. 265-282.
277. Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* / E. V. Kozarov [et al.] // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2005. – Vol. 25, № 3. – P. e17-e18.
278. Identification of single bacterial cells in aqueous solution using confocal laser tweezers Raman spectroscopy / C. Xie [et al.] // *Analytical chemistry*. – 2005. – Vol. 77, № 14. – P. 4390-4397.
279. Identification of the gene (BBS1) most commonly involved in Bardet-Biedl syndrome, a complex human obesity syndrome / K. Mykytyn [et al.] // *Nature genetics*. – 2002. – Vol. 31, № 4. – P. 435-438.
280. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis / R. Assuma [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 1998. – Vol. 160, № 1. – P. 403-409.

281. IL-1 gene polymorphism and smoking as risk factors for peri-implant bone loss in a well-maintained population / A. Feloutzis [et al.] // *Clinical Oral Implants Research*. – 2003. – Vol. 14, № 1. – P. 10-17.
282. IL-1RN gene polymorphism is associated with peri-implantitis / M. L. Laine [et al.] // *Clinical Oral Implants Research*. – 2006. – Vol. 17, № 4. – P. 380-385.
283. IL-2 is essential for TGF- β to convert naive CD4⁺ CD25⁻ cells to CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells and for expansion of these cells / S. G. Zheng [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2007. – Vol. 178, № 4. – P. 2018-2027.
284. IL-23-producing CD68⁺ macrophage-like cells predominate within an IL-17-polarized infiltrate in chronic periodontitis lesions / J. P. Allam [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2011. – Vol. 38, № 10. – P. 879-886.
285. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines / J. Schmitz [et al.] // *Immunity*. – 2005. – Vol. 23, № 5. – P. 479-490.
286. IL-6, RANKL, TNF- α /IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology / K. T. Steeve [et al.] // *Cytokine & growth factor reviews*. – 2004. – Vol. 15, № 1. – P. 49-60.
287. IL-8 and IDO expression by human gingival fibroblasts via TLRs / R. Mahanonda [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2007. – Vol. 178, № 2. – P. 1151-1157.
288. IL-9 induces differentiation of TH17 cells and enhances function of FoxP3⁺ natural regulatory T cells / W. Elyaman [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2009. – Vol. 106, № 31. – P. 12885-12890.
289. Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 1-10 in periodontitis / A. Beklen [et al.] // *Oral microbiology and immunology*. – 2008. – Vol. 23, № 5. – P. 425-431.
290. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms / G. J. Seymour [et al.] // *Journal of periodontal research*. – 1993. – Vol. 28, № 6. – P. 478-486.

291. In situ identification of streptococci and other bacteria in initial dental biofilm by confocal laser scanning microscopy and fluorescence in situ hybridization / I. Dige [et al.] // *European journal of oral sciences*. – 2007. – Vol. 115, № 6. – P. 459-467.
292. Inflammation and bone loss in periodontal disease / D. L. Cochran // *Journal of periodontology*. – 2008. – Vol. 79, № 8S. – P. 1569-1576.
293. Influence of subcutaneous administration of recombinant TNF- α on ligature-induced periodontitis in rats / R. Gašperšič [et al.] // *Journal of periodontal research*. – 2003. – Vol. 38, № 2. – P. 198-203.
294. Interaction Between Fibronectin Fragments and Immunoglobulin G in Gingival Crevicular Fluid of Patients with Periodontal Disease/Kompleksi fibronektinskih fragmenata i imunoglobulina G u gingivalnoj tečnosti osoba obolelih od parodontopatije / G. Brajović [et al.] // *Serbian Dental Journal*. – 2015. – Vol. 62, № 2. – P. 55-64.
295. Interleukin 1 and receptor antagonist levels in gingival crevicular fluid in heavy smokers versus non-smokers / A. Rawlinson [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2003. – Vol. 30, № 1. – P. 42-48.
296. Interleukin 1 beta (IL-1 β) promoter C [- 511] T polymorphism but not C [+ 3953] T polymorphism is associated with polycystic ovary syndrome / Y. Mu [et al.] // *Endocrine*. – 2010. – Vol. 37, № 1. – P. 71-75.
297. Interleukin 1B and interleukin 1RN polymorphisms are associated with increased risk of gastric carcinoma / J. C. Machado [et al.] // *Gastroenterology*. – 2011. – Vol. 121, № 4. – P. 823-829.
298. Interleukin 1B gene (IL-1B) and interleukin 1 receptor antagonist gene (IL-1RN) polymorphisms in Helicobacter pylori-negative gastric cancer of intestinal and diffuse histotype / A. Ruzzo [et al.] // *Annals of oncology*. – 2005. – Vol. 16, № 6. – P. 887-892.
299. Interleukin gene polymorphisms and breast cancer: a case control study and systematic literature review / S. P. Balasubramanian [et al.] // *BMC cancer*. – 2006. – Vol. 6, № 1. – P. 188.

300. Interleukin-1 and tumor necrosis factor- ALPHA. gene polymorphisms in Turkish patients with localized aggressive periodontitis / E. Guzeldemir [et al.] // Journal of oral science. – 2008. – Vol. 50, № 2. – P. 151-159.
301. Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis / N. Y. Karimbux [et al.] // Journal of periodontology. – 2012. – Vol. 83, № 11. – P. 1407-1419.
302. Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice / M. J. McDevitt [et al.] // Journal of Periodontology. – 2000. – Vol. 71, № 2. – P. 156-163.
303. Interleukin-1B polymorphism is associated with age at onset of Alzheimer's disease / F. L. Sciacca [et al.] // Neurobiology of aging. – 2003. – Vol. 24, № 7. – P. 927-931.
304. Interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist genes polymorphisms and phenotype of inflammatory response in the gastric mucosa in Helicobacter pylori infection / A. V. Kononov [et al.] // Molecular Medicine. – 2010. – № 1. – P. 42.
305. Interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis / M. C. Camargo [et al.] // Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. – 2006. – Vol. 15, № 9. – P. 1674-1687.
306. Interleukin-1 β levels in gingival crevicular fluid and serum under naturally occurring and experimentally induced gingivitis / L. Trombelli [et al.] // Journal of clinical periodontology. – 2010. – Vol. 37, № 8. – P. 697-704.
307. Interleukin-1 β , clinical parameters and matched cellular-histopathologic changes of biopsied gingival tissue from periodontitis patients / L. T. Hou [et al.] // Journal of periodontal research. – 2003. – Vol. 38, № 3. – P. 247-254.
308. Interleukin-4 differentially regulates osteoprotegerin expression and induces calcification in vascular smooth muscle cells / L. C. Hofbauer [et al.] // Thromb Haemost. – 2006. – Vol. 95, № 4. – P. 708-714.
309. Interleukin-4 gene polymorphism and its relation to periodontal disease in a Brazilian population of African heritage / C. C. Pontes [et al.] // Journal of dentistry. – 2004. – Vol. 32, № 3. – P. 241-246.

310. Interleukin-4 gene polymorphisms in Japanese and Caucasian patients with aggressive periodontitis / J. R. Gonzales [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2004. – Vol. 31, № 5. – P. 384-389.
311. Interleukin-4 polymorphisms in early onset periodontitis / J. Michel [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2001. – Vol. 28, № 5. – P. 483-488.
312. Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure / T. Peschel [et al.] // *European journal of heart failure*. – 2003. – Vol. 5, № 5. – P. 609-614.
313. Investigation of ciprofloxacin penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms / P. A. Suci [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2004. – Vol. 38, № 9. – P. 2125-2133.
314. Investigation of homocysteine on cell apoptosis and death receptor expression in human vascular smooth muscle cells / J. Dou [et al.] // *Chinese Journal of Cardiovascular Review*. – 2008. – Vol. 11. – P. 028.
315. Investigation of IL4 gene polymorphism in individuals with different levels of chronic periodontitis in a Brazilian population / R. M. Scarel-Caminaga [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2003. – Vol. 30, № 4. – P. 341-345.
316. Is There a Prospective Association between Obesity and Periodontal Disease? / M. Jimenez [et al.] // *87-th General Session of the International Association for Dental Research*. – 2009. – 2013.
317. Jain S. Contribution of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide to periodontitis / S. Jai, R. P. Darveau // *Periodontology 2000*. – 2010. – Vol. 54, № 1. – P. 53-70. 62
318. Jakubovics N. S. Talk of the town: interspecies communication in oral biofilms / N. S. Jakubovics / N. S. Jakubovics // *Molecular oral microbiology*. – 2010. – Vol. 25, № 1. – P. 4-14.
319. Jakubovics N. S. The road to ruin: the formation of disease-associated oral biofilms / N. S. Jakubovics, P. E. Kolenbrander // *Oral diseases*. – 2010. – Vol. 16, № 8. – P. 729-739.

320. Karolewska E. Autoimmune process participation in the oral pathologies / E. Karolewska, T. Konopka // *Dent. Med. Probl.* – 2004. – Vol. 41, № 2. – P. 267-276.
321. Katsios C., Roukos D. H. Individual genomes and personalized medicine: life diversity and complexity // *Personalized Medicine.* – 2010. – T. 7. – №. 4. – C. 347-350.
322. Kimang'a A. N. IL-1B-511 Allele T and IL-1RN-L/L play a pathological role in helicobacter pylori (*H. pylori*) disease outcome in the African population / A. N. Kimang'a // *Ethiopian journal of health sciences.* – 2012. – Vol. 22, № 3. – P.
323. Kinane D. F. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease / D. F. Kinane, T. C. Hart // *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine.* – 2003. – Vol. 14, № 6. – P. 430-449.
324. Konenkov V. I. Polymorphism of promotor sites of interleukins-4 and-10 and tumor necrosis factor-alpha genes in HIV-infected patients / V. I. Konenkov, M. V. Smol'nikova // *Bulletin of experimental biology and medicine.* – 2002. – Vol. 133, № 4. – P. 389-391.
325. Kornman K. S. Clem D. The “Innovator's Dilemma” for Periodontists / K. S. Kornman, D. Clem // *Journal of periodontology.* – 2010. – Vol. 81, № 5. – P. 646-649.
326. Kornman K. S. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis / K. S. Kornman, F. S. di Giovine // *Annals of Periodontology.* – 1998. – Vol. 3, № 1. – P. 327-338.
327. Krawczyk C. M. Functional plasticity in memory T helper cell responses / C. M. Krawczyk, H. Shen, E. J. Pearce // *The Journal of Immunology.* – 2007. – Vol. 178, № 7. – P. 4080-4088.
328. Lack of association between the TNF α G- 308 A promoter polymorphism and periodontal disease / M. Folwaczny [et al.] // *Journal of clinical periodontology.* – 2004. – Vol. 31, № 6. – P. 449-453.
329. Lang N. P. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT) / N. P. Lang, M. S. Tonetti // *Oral Health Prev Dent.* – 2003. – Vol. 1, № 1. – P. 7-16. 15

330. Larsson L. Accuracy of Assessment of Positive Cell Markers in Tissues Prepared With Immunohistochemistry and In Situ Hybridization Techniques / L. Larsson, T. Berglundh // *Journal of Histotechnology*. – 2007. – Vol. 30, № 3. – P. 167-173.
331. Lindhe J. Plaque induced periodontal disease in beagle dogs / J. Lindhe, S. E. Hamp, H. Løe // *Journal of periodontal research*. – 1975. – Vol. 10, № 5. – P. 243-255.
332. Linkage disequilibrium analysis of case–control data: an application to generalized aggressive periodontitis / C. Scapoli [et al.] // *Genes and immunity*. – 2005. – Vol. 6, № 1. – P. 44-52.
333. Lipopolysaccharide of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* up-regulates inflammatory cytokines, prostaglandin E2 synthesis and osteoclast formation in interleukin-1 receptor antagonist-deficient mice / H. Mizutani [et al.] // *Journal of periodontal research*. – 2013. – Vol. 48, № 6. – P. 748-756.
334. Lipopolysaccharide stimulation of the human neutrophil: an analysis of changes in gene transcription and protein expression by oligonucleotide microarrays and proteomics / M. B. Fessler [et al.] // *CHEST Journal*. – 2002. – Vol. 121, № 3. – (suppl.) – P. 75S-76S. 155
335. Liu Y. C. G. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles / Y. C. G. Liu, U. H. Lerner, Y. T. A. Teng // *Periodontology 2000*. – 2010. – Vol. 52, № 1. – P. 163-206.
336. Local complement-targeted intervention in periodontitis: proof-of-concept using a C5a receptor (CD88) antagonist / T. Abe [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2012. – Vol. 189, № 11. – P. 5442-5448.
337. Local expression of interleukin-10 and mCD14 in relation to the-1087 IL-10 and-159 CD14 gene polymorphisms in chronic periodontitis / M. Donati [et al.] // *Journal of periodontology*. – 2008. – Vol. 79, № 3. – P. 517-524.
338. Longitudinal study on the relationship between serum albumin and periodontal disease / M. Iwasaki [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2008. – Vol. 35, № 4. – P. 291-296.

339. Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10-year prospective cohort study of the ITI® Dental Implant System / I. K. Karoussis [et al.] // *Clinical Oral Implants Research*. – 2003. – Vol. 14, № 3. – P. 329-339.
340. Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world / P. Williams [et al.] // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. – 2007. – Vol. 362, № 1483. – P. 1119-1134.
341. Lymphocyte arrest requires instantaneous induction of an extended LFA-1 conformation mediated by endothelium-bound chemokines / R. Shamri [et al.] // *Nature immunology*. – 2005. – Vol. 6, № 5. – P. 497-506.
342. Macrophage Inflammatory Protein 3 α -CC chemokine receptor 6 interactions play an important role in CD4+ T-cell accumulation in periodontal diseased tissue / Y. Hosokawa [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology*. – 2002. – Vol. 128, № 3. – P. 548-554.
343. Mahanonda R. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease / R. Mahanonda, S. Pichyangkul // *Periodontology 2000*. – 2007. – Vol. 43, № 1. – P. 41-55.
344. Marsh P. D. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control / P. D. Marsh, A. Moter, D. A. Devine // *Periodontology 2000*. – 2011. – Vol. 55, № 1. – P. 16-35.
345. Marsh P. D. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style / P. D. Marsh // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2005. – Vol. 32, № s6. – P. 7-15.
346. Marsh P. D. The oral microflora and biofilms on teeth / P. D. Marsh, B. Nyvad // *Dental caries. The disease and its clinical management*, 2-nd Edition Blackwell Munksgaard. – Oxford, 2008. – P. 163-187.
347. Mason K. Mason and McCall Smith's law and medical ethics / K. Mason, G. Laurie, A. M. C. Smith. – Oxford : University Press, 2013. – 219p.
348. Maturation of human neutrophil phagosomes includes incorporation of molecular chaperones and endoplasmic reticulum quality control machinery / C.

- Burlak [et al.] // *Molecular & Cellular Proteomics*. – 2006. – Vol. 5, № 4. – P. 620-634.
349. Mature dendritic cells infiltrate the T cell-rich region of oral mucosa in chronic periodontitis: in situ, in vivo, and in vitro studies / R. Jotwani [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2001. – Vol. 167, № 8. – P. 4693-4700.
350. Mechanisms of TNF- α -and RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone resorption in psoriatic arthritis / C. T. Ritchlin [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2003. – Vol. 111, № 6. – P. 821.
351. Mende M. Einfluß des-308-alpha-Polymorphismus des Tumor-Nekrose-Faktors-alpha bei Patienten mit chronischer marginaler Parodontitis - 2004. – P. 56
352. Menezes N. G. Lack of association between the TNF- α -308 (G/A) genetic polymorphism and periodontal disease in Brazilians / N. G. Menezes, A. P. V. Colombo // *Brazilian oral research*. – 2008. – Vol. 22, № 4. – P. 322-327.
353. Mi Q. et al. Translational systems biology of inflammation: potential applications to personalized medicine // *Personalized medicine*. – 2010. – T. 7. – №. 5. – C. 549-559. перс-4
354. Microbial complexes in subgingival plaque / S. S. Socransky [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 1998. – Vol. 25, № 2. – P. 134-144.
355. Microbial interactions in building of communities / C. J. Wright [et al.] // *Molecular oral microbiology*. – 2013. – Vol. 28, № 2. – P. 83-101.
356. Miller M. B. Quorum sensing in bacteria / M. B. Miller, B. L. Bassler // *Annual Reviews in Microbiology*. – 2001. – Vol. 55, № 1. – P. 165-199.
357. Mitochondrial reactive oxygen species control T cell activation by regulating IL-2 and IL-4 expression: mechanism of ciprofloxacin-mediated immunosuppression / M. M. Kamiński [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2010. – Vol. 184, № 9. – P. 4827-4841.
358. Mitsuta T. Effects of topical administration of clodronate on alveolar bone resorption in rats with experimental periodontitis / T. Mitsuta, H. Horiuchi, H. Shinoda // *Journal of periodontology*. – 2002. – Vol. 73, № 5. – P. 479-486.

359. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis / A. Beklen [et al.] // *Journal of dental research*. – 2007. – Vol. 86, № 4. – P. 347-351.
360. Modeling susceptibility to periodontitis / M. L. Laine [et al.] // *Journal of dental research*. – 2013. – Vol. 92, № 1. – P. 45-50.
361. Modulation of the antibody response by *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* in a mouse model / E. Gemmell [et al.] // *Oral microbiology and immunology*. – 2004. – Vol. 19, № 4. – P. 247-251.
362. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach / Blaser M. J. [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2006. – Vol. 103, № 3. – P. 732-737.
363. Moons P. Bacterial interactions in biofilms / P. Moons, C. W. Michiels, A. Aertsen // *Critical reviews in microbiology*. – 2009. – Vol. 35, № 3. – P. 157-168.
364. Moore W. E. C. The bacteria of periodontal diseases / W. E. C. Moore, L. V. H. Moore // *Periodontology 2004*. – Vol. 5, № 1. – P. 66-77.
365. Mros S. T. Aggressive periodontitis in children: a 14–19-year follow-up / S. T. Mros, T. Berglundh // *Journal of clinical periodontology*. – 2010. – Vol. 37, № 3. – P. 283-287.
366. Murakami S. Periodontal tissue regeneration by signaling molecule (s): what role does basic fibroblast growth factor (FGF-2) have in periodontal therapy? / S. Murakami // *Periodontology 2000*. – 2011. – Vol. 56, № 1. – P. 188-208.
367. Neutrophil-derived cytokines: potential therapeutic targets in inflammation / T. Kasama [et al.] // *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*. – 2005. – Vol. 4, № 3. – P. 273-279.
368. Ng W. L. Bacterial quorum-sensing network architectures / W. L. Ng, B. L. Bassler // *Annual review of genetics*. – 2009. – Vol. 43. – P. 197.
369. Nunn M. E. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors / M. E. Nunn // *Periodontology 2000*. – 2003. – Vol. 32, № 1. – P. 11-23.

370. Nussbaum G. How has neutrophil research improved our understanding of periodontal pathogenesis? / G. Nussbaum, L. Shapira // *Journal of clinical periodontology*. – 2011. – Vol. 38, № 1. – P. 49-59.
371. Oda T. Porphyromonas gingivalis antigen preferentially stimulates T cells to express IL-17 but not receptor activator of NF- κ B ligand in vitro / T. Oda, H. Yoshie, K. Yamazaki // *Oral microbiology and immunology*. – 2003. – Vol. 18, № 1. – P. 30-36.
372. Okoye I. S. CD4⁺ T helper 2 cells–microbial triggers, differentiation requirements and effector functions / I. S. Okoye, M. S. Wilson // *Immunology*. – 2011. – Vol. 134, № 4. – P. 368-377.
373. Oral epithelial overexpression of IL-1 α causes periodontal disease / S. Dayan [et al.] // *Journal of dental research*. – 2004. – Vol. 83, № 10. – P. 786-790.
374. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance / P. E. Kolenbrander [et al.] // *Nature Reviews Microbiology*. – 2010. – Vol. 8, № 7. – P. 471-480.
375. Oral status of patients submitted to autologous hematopoietic stem cell transplantation / L. L. D. Fernandes [et al.] // *Supportive Care in Cancer*. – 2014. – Vol. 22, № 1. – P. 15-21.
376. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, interleukin (IL)-17, IL-10 and transforming growth factor- β during the progression of chronic periodontitis / N. Dutzan [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2009. – Vol. 36, № 5. – P. 396-403.
377. P. aeruginosa quorum-sensing systems and virulence / R. S. Smith, B. H. Iglewski // *Current opinion in microbiology*. – 2003. – Vol. 6, № 1. – P. 56-60.
378. Parsek M. R. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms / M. R., Parsek, E. P. Greenberg // *Trends in microbiology*. – 2005. – Vol. 13, № 1. – P. 27-33.
379. Peek R. M. Helicobacter pylori infection and disease: from humans to animal models / R. M. Peek // *Disease models & mechanisms*. – 2008. – Vol. 1, № 1. – P. 50-55.

380. Periodontal disease and coronary heart disease / K. Geismar [et al.] // *Journal of periodontology*. – 2006. – Vol. 77, № 9. – P. 1547-1554.
381. Periodontal disease and other nontraditional risk factors for CKD / M. A. Fisher [et al.] // *American Journal of Kidney Diseases*. – 2008. – Vol. 51, № 1. – P. 45-52.
382. Periodontal disease: the sixth complication of diabetes mellitus / H. Løe // *Diabetes care*. – 1993. – Vol. 16, № 1. – P. 329-334.
383. Periodontal findings in adult twins / B. S. Michalowicz [et al.] // *Journal of periodontology*. – 1991. – Vol. 62, № 5. – P. 293-299.
384. Periodontal progression based on radiographic records: An observational study in chronic and aggressive periodontitis / O. Onabolu [et al.] // *Journal of dentistry*. – 2015. – Vol. 43, № 6. – P. 673-682.
385. Periodontal status and serum antibody responses to oral microorganisms in Sjögren's syndrome / H. Çelenligil [et al.] // *Journal of periodontology*. – 1998. – Vol. 69, № 5. – P. 571-577.
386. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers / F. D'Aiuto [et al.] // *Journal of Dental Research*. – 2004. – Vol. 83, № 2. – P. 156-160.
387. Periostin null mice exhibit dwarfism, incisor enamel defects, and an early-onset periodontal disease-like phenotype / H. Rios [et al.] // *Molecular and Cellular Biology*. – 2005. – Vol. 25, № 24. – P. 11131-11144.
388. Pharmacophore Superfamily to Operate the Cell Proliferation and Apoptosis Processes / M. A. Orlova [et al.] // *International Journal of Sciences*. – 2012. – Vol. 1. – № 2012-10.
389. Pöllänen M. T. Structure and function of the tooth–epithelial interface in health and disease / M. T. Pöllänen, J. I. Salonen, V. J. Uitto // *Periodontology 2000*. – 2003. – Vol. 31, № 1. – P. 12-31.
390. Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis / G. M. Galbraith [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 1999. – Vol. 26, № 11. – P. 705-709.

391. *Porphyromonas gingivalis* RgpA-Kgp proteinase-adhesin complexes penetrate gingival tissue and induce proinflammatory cytokines or apoptosis in a concentration-dependent manner / N. M. O'Brien-Simpson [et al.] // *Infection and immunity*. – 2009. – Vol. 77, № 3. – P. 1246-1261.
392. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction / A. J. Van Winkelhoff [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2002. – Vol. 29, № 11. – P. 1023-1028.
393. Prakash P. S. G. Interleukin-1b gene polymorphism and its association with chronic periodontitis in South Indian population / P. S. G. Prakash, D. J. Victor // *International Journal of Genetics and Molecular Biology*. – 2010. – Vol. 2, № 8. – P. 179-183.
394. Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population / D. Sakellari [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2003. – Vol. 30, № 1. – P. 35-41.
395. Prognostic model for tooth survival in patients treated for periodontitis / C. M. Faggion [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2007. – Vol. 34, № 3. – P. 226-231.
396. Quantitative cytokine mRNA expression profiles in the colonic mucosa of patients with steroid naive ulcerative colitis during active and quiescent disease / R. Matsuda [et al.] // *Inflammatory bowel diseases*. – 2009. – Vol. 15, № 3. – P. 328-334.
397. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase / Y. H. Dong [et al.] // *Nature*. – 2001. – Vol. 411, № 6839. – P. 813-817.
398. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones / K. H. McClean [et al.] // *Microbiology*. – 1997. – Vol. 143, № 12. – P. 3703-3711.
399. Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilms / J. M. Yarwood [et al.] // *Journal of bacteriology*. – 2004. – Vol. 186, № 6. – P. 1838-1850.

400. Ramsey M. M. Metabolite cross-feeding enhances virulence in a model polymicrobial infection / M. M. Ramsey, K. P. Rumbaugh, M. Whiteley // *PLoS Pathog.* – 2011. – Vol. 7, № 3. – P. e1002012.
401. RANKL inhibition through osteoprotegerin blocks bone loss in experimental periodontitis / Q. Jin [et al.] // *Journal of periodontology.* – 2007. – T. 78, № 7. – P. 1300-1308.
402. RANKL upregulation associated with periodontitis and *Porphyromonas gingivalis* / N. Wara-aswapati [et al.] // *Journal of periodontology.* – 2007. – Vol. 78, № 6. – P. 1062-1069.
403. Rapid identification of *Candida albicans* in blood by combined capillary electrophoresis and fluorescence in situ hybridization / A. W. Lantz [et al.] // *Electrophoresis.* – 2010. – Vol. 31, № 16. – P. 2849-2853.
404. Rasmussen T. B. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs / T. B. Rasmussen, M. Givskov // *International Journal of Medical Microbiology.* – 2006. – Vol. 296, № 2. – P. 149-161.
405. Receptor activator NF κ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis / T. Crotti [et al.] // *Journal of Periodontal Research.* – 2003. – Vol. 38, № 4. – P. 380-387.
406. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis / R. Górska [et al.] // *Journal of clinical periodontology.* – 2003. – Vol. 30, № 12. – P. 1046-1052.
407. Relationship between periodontal infections and systemic disease / G. J. Seymour [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection.* – 2007. – Vol. 13, № s4. – P. 3-10.
408. Relative proportions of mononuclear cell types in periodontal lesions analyzed by immunohistochemistry / D. F. Lappin [et al.] // *Journal of clinical periodontology.* – 1999. – Vol. 26, № 3. – P. 183-189.

409. Relevance of an in vitro osteoclastogenesis system to study receptor activator of NF- κ B ligand and osteoprotegerin biological activities / Y. Wittrant [et al.] // *Experimental cell research*. – 2004. – Vol. 293, № 2. – P. 292-301.
410. Retention of questionable and hopeless teeth in compliant patients treated for aggressive periodontitis / C. Graetz [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2011. – Vol. 38, № 8. – P. 707-714.
411. Ricucci D. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings / D. Ricucci, J. F. Siqueira // *Journal of endodontics*. – 2010. – Vol. 36, № 8. – P. 1277-1288.
412. Risk factors for various levels of periodontal disease and treatment needs in Iowa / J. D. Beck [et al.] // *Community dentistry and oral epidemiology*. – 1994. – Vol. 12, № 1. – P. 17-22.
413. Ritchlin C. Fibroblast biology. Effector signals released by the synovial fibroblast in arthritis / C. Ritchlin // *Arthritis Res*. – 2000. – Vol., № 5. – P. 356-60.
414. Rodriguez M. A. Capillary electrophoretic method for the detection of bacterial contamination / M. A. Rodriguez, A. W. Lantz, D. W. Armstrong // *Analytical chemistry*. – 2006. – Vol. 78, № 14. – P. 4759-4767.
415. Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease / M. Kajiya [et al.] // *Journal of oral microbiology*. – 2010. – Vol. 2. – P. 135.
416. Role of systemic and local administration of selective inhibitors of cyclooxygenase 1 and 2 in an experimental model of periodontal disease in rats / C. M. Queiroz-Junior [et al.] // *Journal of periodontal research*. – 2009. – Vol. 44, № 2. – P. 153-160.
417. Ross J. S. et al. The HER-2 receptor and breast cancer: ten years of targeted anti-HER-2 therapy and personalized medicine // *The oncologist*. – 2009. – T. 14. – № 4. – C. 320-368.
418. Schenkein H. A. The host response in periodontitis: anti-phospholipid autoantibodies as a link between plaque bacteria and extraoral disease / H. A. Schenkein // *Oral Biosci Med*. – 2005. – Vol. 2. – P. 221-225.

419. Schroeder H. E. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection / H. E. Schroeder, M. A. Listgarten // *Periodontology 2000*. – Vol. 13, № 1. – P. 91-120.
420. Schulte G. The Frizzled family of unconventional G-protein-coupled receptors / G. Schulte, V. Bryja // *Trends in pharmacological sciences*. – 2007. – Vol. 28, № 10. – P. 518-525.
421. Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI selector / T. B. Rasmussen [et al.] // *Journal of bacteriology*. – 2005. – Vol. 187, № 5. – P. 1799-1814.
422. Selective activation of p38 mitogen-activated protein kinase cascade in human neutrophils stimulated by IL-1 β / K. Suzuki [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2004. – Vol. 167, № 10. – P. 5940-5947.
423. Seneviratne C. J. Dental plaque biofilm in oral health and disease / C. J. Seneviratne, C. F. Zhang, L. P. Samaranayake // *Chin J Dent Res*. – 2011. – Vol. 14, № 2. – P. 87-94.
424. Serotype distribution and antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from adults in France: evolution between 2001 and 2003 / M. Roussel-Delvallez [et al.] // *Microbial Drug Resistance*. – 2009. – Vol. 15, № 3. – P. 201-204.
425. Seymour G. J. Cytokines in periodontal disease: where to from here? / G. J. Seymour, E. Gemmell // *Acta Odontologica*. – 2001. – Vol. 59, № 3. – P. 167-173.
426. Seymour R. A. Effects of medications on the periodontal tissues in health and disease / R. A. Seymour // *Periodontology 2000*. – 2006. – Vol. 40, № 1. – P. 120-129.
427. Shank E. A. New developments in microbial interspecies signaling / E. A. Shank, R. Kolter // *Current opinion in microbiology*. – 2009. – Vol. 12, № 2. – P. 205-214.
428. Short-and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms / C. B. Huang [et al.] // *Archives of oral biology*. – 2011. – Vol. 56, № 7. – P. 650-654.

429. Significant association of interleukin-4 gene intron 3 VNTR polymorphism with susceptibility to knee osteoarthritis / S. Yigit [et al.] // *Gene*. – 2014. – Vol. 537, № 1. – P. 6-9.
430. Single-nucleotide polymorphisms in the IL-4 and IL-13 promoter region in aggressive periodontitis / J. R. Gonzales [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2007. – Vol. 34, № 6. – P. 473-479.
431. Slots J. New views on periodontal microbiota in special patient categories / J. Slots, T. E. Rams // *Journal of clinical periodontology*. – 1991. – Vol. 18, № 6. – P. 411-420.
432. Smith M. Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis / M. Smith, G. J. Seymour, M. P. Cullinan // *Periodontology 2000*. – 2010. – Vol. 53, № 1. – P. 45-54. 125 o9
433. Socransky S. S. Periodontal microbial ecology / S. S. Socransky, A. D. Haffajee // *Periodontology 2000*. – 2005. – Vol. 38, № 1. – P. 135-187.
434. Spoering A. L. Quorum sensing and DNA release in bacterial biofilms / A. L. Spoering, M. S. Gilmore // *Current opinion in microbiology*. – 2006. – Vol. 9, № 2. – P. 133-137.
435. Stimulation of *Fusobacterium nucleatum* biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis* / Y. Saito [et al.] // *Oral microbiology and immunology*. – 2008. – Vol. 23, № 1. – P. 1-6.
436. Strong association of interleukin-4 (- 590 C/T) polymorphism with increased risk for oral squamous cell carcinoma in Europeans / E. Vairaktaris [et al.] // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. – 2007. – Vol. 104, № 6. – P. 796-802.
437. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron / X. Chen [et al.] // *Nature*. – 2002. – Vol. 415, № 6871. – P. 545-549.
438. Study on the regulation of osteoclast and t cell activation via cell membrane proteins of tnf family, cd137 ligand and rank ligand / S. J. Hong [et al.] // *The journal of the korean academy of pedtatric dentistry*. – 2008. – Vol. 35, № 4. – P. 597-606.

439. Sustained exposure to bacterial antigen induces interferon- γ -dependent T cell receptor ζ down-regulation and impaired T cell function / N. Bronstein-Sitton [et al.] // *Nature immunology*. – 2003. – Vol. 4, № 10. – P. 957-964.
440. Synergy in biofilm formation between *Fusobacterium nucleatum* and *Prevotella* species / T. Okuda [et al.] // *Anaerobe*. – 2012. – Vol. 18, № 1. – P. 110-116.
441. Synergy of IL-21 and IL-15 in regulating CD8⁺ T cell expansion and function / R. Zeng [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 2005. – Vol. 201, № 1. – P. 139-148.
442. Szablewski L. Role of immune system in type 1 diabetes mellitus pathogenesis / L. Szablewski // *International immunopharmacology*. – 2014. – Vol. 22, № 1. – P. 182-191.
443. T cells support osteoclastogenesis in an in vitro model derived from human periodontitis patients / G. Brunetti [et al.] // *Journal of Periodontology*. – 2005. – Vol. 76, № 10. – P. 1675-1680.
444. Takahashi N. The role of bacteria in the caries process ecological perspectives / N. Takahashi, B. Nyvad // *Journal of Dental Research*. – 2011. – Vol. 90, № 3. – P. 294-303.
445. Taubman M. A. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption / M. A. Taubman, T. Kawai // *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. – 2011. – Vol. 12, № 2. – P. 125-135.
446. Teng Y. T. A. The role of acquired immunity and periodontal disease progression / Y. T. A. Teng // *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. – 2003. – Vol. 14, № 4. – P. 237-252.
447. TGF β in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells / M. Veldhoen [et al.] // *Immunity*. – 2006. – Vol. 24, № 2. – P. 179-189.
448. The (-590 C/T) polymorphism in the interleukin-4 gene is associated with increased risk for early stages of colorectal adenocarcinoma in vivo / A. Yannopoulos [et al.] // – 2007. – Vol. 21, № 6. – P. 1031-1035.

449. The association of the composite IL-1 genotype with periodontitis progression and/or treatment outcomes: a systematic review / G. Huynh-Ba [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2007. – Vol. 34, № 4. – P. 305-317.
450. The carriage of *Candida* species on the dorsal surface of the tongue: the correlation with the dental, periodontal and prosthetic status in elderly subjects / J. Wang [et al.] // *Gerodontology.* – 2006. – Vol. 23, № 3. – P. 157-163.
451. The changes in T lymphocyte subsets following periodontal treatment in patients with chronic periodontitis / K. Erciyas [et al.] // *Journal of periodontal research.* – 2006. – Vol. 41, № 3. – P. 165-170.
452. The changes in the T-lymphocyte subsets in a population of Turkish children with puberty gingivitis / T. Demir [et al.] // *International Journal of Paediatric Dentistry.* – 2009. – Vol. 19, № 3. – P. 206-212.
453. The close association between dental and periodontal treatments and oral ulcer course in behcet's disease: a prospective clinical study / U. Karacayli [et al.] // *Journal of oral pathology & medicine.* – 2009. – Vol. 38, № 5. – P. 410-415.
454. The detection of eight putative periodontal pathogens in adult and rapidly progressive periodontitis patients: an institutional study / V. M. Joshi [et al.] // *Indian Journal of Dental Research.* – 2007. – Vol. 18, № 1. – P. 6.
455. The dual role of p55 tumour necrosis factor- α receptor in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-induced experimental periodontitis: host protection and tissue destruction / G. P. Garlet [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology.* – 2007. – Vol. 147, № 1. – P. 128-138.
456. The E3 ubiquitin ligase itch couples JNK activation to TNF α -induced cell death by inducing c-FLIP L turnover / L. Chang [et al.] // *Cell.* – 2006. – Vol. 124, № 3. – P. 601-613.
457. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus / M. Kiran [et al.] // *Journal of clinical periodontology.* – 2005. – Vol. 32, № 3. – P. 266-272.

458. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering / G. T. J. Huang [et al.] // *Journal of endodontics*. – 2008. – Vol. 34, № 6. – P. 645-651.
459. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease / K. S. Kornman [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 1997. – Vol. 24, № 1. – P. 72-77.
460. The interleukin-1 polymorphism, smoking, and the risk of periodontal disease in the population-based SHIP study / P. Meisel [et al.] // *Journal of dental research*. – 2003. – Vol. 82, № 3. – P. 189-193.
461. The levels of volatile sulfur compounds in mouth air from patients with chronic periodontitis / C. C. Tsai [et al.] // *Journal of periodontal research*. – 2008. – Vol. 43, № 2. – P. 186-193.
462. The orphan nuclear receptor ROR γ t directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells / I. I. Ivanov [et al.] // *Cell*. – 2006. – Vol. 126, № 6. – P. 1121-1133.
463. The polymicrobial nature of biofilm infection / R. Wolcott [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2013. – Vol. 19, № 2. – P. 107-112.
464. The presence of local and circulating autoreactive B cells in patients with advanced periodontitis / T. Berglundh [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2002. – Vol. 29, № 4. – P. 281-286.
465. The *Pseudomonas aeruginosa* type IV pilin receptor binding domain functions as an adhesin for both biotic and abiotic surfaces / C. L. Giltner [et al.] // *Molecular microbiology*. – 2006. – Vol. 59, № 4. – P. 1083-1096.
466. The relationship between IL-1 gene polymorphism and marginal bone loss around dental implants / Y. Lin [et al.] // *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. – 2007. – Vol. 65, № 11. – P. 2340-2344.
467. The relationship between periodontal condition and serum levels of resistin and adiponectin in elderly Japanese / R. Furugen [et al.] // *Journal of periodontal research*. – 2008. – Vol. 43, № 5. – P. 556-562.

468. The role of interleukin-1 β in direct and Toll-like receptor 4-mediated neutrophil activation and survival / L. R. Prince [et al.] // *The American journal of pathology*. – 2008. – Vol. 165, № 5. – P. 1819-1826.
469. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation / L. Abusleme [et al.] // *The ISME journal*. – 2013. – Vol. 7, № 5. – P. 1016-1025.
470. The use of cationic surfactants and ionic liquids in the detection of microbial contamination by capillary electrophoresis / Y. Bao [et al.] // *Electrophoresis*. – 2008. – Vol. 29, № 12. – P. 2587-2592.
471. The-308 polymorphism in the promoter region of the tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) gene and ex vivo lipopolysaccharide-induced TNF- α expression in patients with aggressive periodontitis and/or type 1 diabetes mellitus / C. Pérez [et al.] // *European cytokine network*. – 2008. – Vol. 15, № 4. – P. 364-370.
472. Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases / E. Theilade // *Journal of clinical periodontology*. – 1986. – Vol. 13, № 10. – P. 905-911.
473. Tight-adherence genes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* are required for virulence in a rat model / H. C. Schreiner [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2003. – Vol. 100, № 12. – P. 7295-7300.
474. TNF/iNOS-producing dendritic cells mediate innate immune defense against bacterial infection / N. V. Serbina [et al.] // *Immunity*. – 2003. – Vol. 19, № 1. – P. 59-70.
475. Tokoro Y. IL-1 β mRNA as the predominant inflammatory cytokine transcript-correlation with inflammatory cell infiltration into human gingiva / Y. Tokoro, T. Yamamoto, K. Hara // *Journal of oral pathology & medicine*. – 1996. – Vol. 25, № 5. – P. 225-231.
476. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis / S. Kiechl [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2002. – Vol. 347, № 3. – P. 185-192.

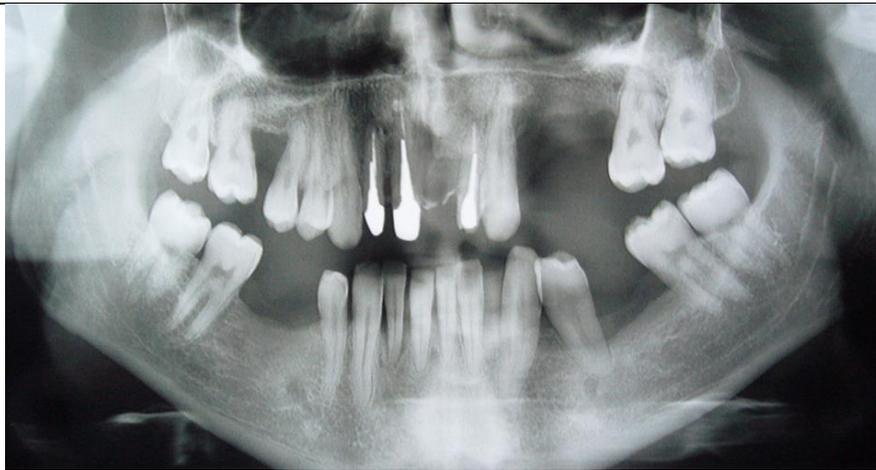
477. Tooth loss after active periodontal therapy. 1: Patient-related factors for risk, prognosis, and quality of outcome / P. Eickholz [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2008. – Vol. 35, № 2. – P. 165-174.
478. Transforming Growth Factor-B1 and Matrix Metalloproteinase-7 Promoter Variants Induce Risk for Helicobacter pylori-Associated Gastric Precancerous Lesions / B. R. Achyut [et al.] // *DNA and cell biology*. – 2009. – Vol. 28, № 6. – P. 295-301.
479. Treatment of periodontitis and endothelial function / M. S. Tonetti [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2007. – Vol. 356, № 9. – P. 911-920.
480. Triantafilou M. Lipopolysaccharide recognition: CD14, TLRs and the LPS-activation cluster / M. Triantafilou, K. Triantafilou // *Trends in immunology*. – 2002. – Vol. 23, № 6. – P. 301-304.
481. Tumor necrosis factor gene polymorphisms in patients with cirrhosis from chronic hepatitis C virus infection / L. J Yee [et al.] // *Genes Immun*. – 2003. – Vol. 1, № 6. – P. 386-90.
482. Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to *P. gingivalis* infection / D. T. Graves [et al.] // *Journal of dental research*. – 2004. – Vol. 80, № 10. – P. 1875-1879.
483. Tumor necrosis factor- α – 308G/A single nucleotide polymorphism and red-complex periodontopathogens are independently associated with increased levels of tumor necrosis factor- α in diseased periodontal tissues / A. P. F. Trombone [et al.] // *Journal of periodontal research*. – 2009. – Vol. 44, № 5. – P. 598-608.
484. Vaccination targeting surface FomA of *Fusobacterium nucleatum* against bacterial co-aggregation: Implication for treatment of periodontal infection and halitosis / P. F. Liu [et al.] // *Vaccine*. – 2010. – Vol. 28, № 19. – P. 3496-3505.
485. Valverde L. R. P. Avaliação dos efeitos da terapia fotodinâmica com hipericina no tratamento da doença periodontal induzida em ratos. – 2013.
486. Van Dyke T. E. Risk factors for periodontitis / T. E. Van Dyke, S. Dave // *Journal of the International Academy of Periodontology*. – 2005. – Vol. 7, № 1. – P. 3.

487. Vanden Bush T. J. CDK-mediated regulation of cell functions via c-Jun phosphorylation and AP-1 activation / T. J. Vanden Bush, G. A. Bishop // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, № 4. – P. e19468.
488. Variable number of tandem repeat polymorphisms of the interleukin-1 receptor antagonist gene IL-1RN: a novel association with the athlete status / S. Cauci [et al.] // *BMC medical genetics*. – 2010. – Vol. 11, № 1. – P. 29.
489. Variation in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter region may be associated with death from meningococcal disease / S. Nadel [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1996. – Vol. 174, № 4. – P. 878-880.
490. Wang X. Proteomics and leukocytes: an approach to understanding potential molecular mechanisms of inflammatory responses / X. Wang, H. Zhao, R. Andersson // *Journal of proteome research*. – 2004. – Vol. 3, № 5. – P. 921-929.
491. Waters C. M. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria / C. M. Waters, B. L. Bassler // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2005. – Vol. 21. – P. 319-346.
492. Whirl-Carrillo M. et al. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine // *Clinical pharmacology and therapeutics*. – 2012. – T. 92. – №. 4. – C. 414.
493. Why not revising tinidazole as potential treatment of odontogenic infections? / F. J. Manso [et al.] // *Revista Española de Quimioterapia*. – 2008. – Vol. 21, № 3. – P. 198-202.
494. Wolf L. D. Contemporary concepts in the diagnosis of periodontal disease / L. D. Wolf, I. B. Lamster // *Dental Clinics of North America*. – 2011. – Vol. 55, № 1. – P. 47-61.
495. Yaghobee S. Comparison of interleukin-1 β levels in gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid and its relationship with clinical indexes / S. Yaghobee, A. Khorsand, M. Paknejad // *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*. – 2013, Vol. 10, № 1. – P. 1.
496. Yucel-Lindberg T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis / T. Yucel-Lindberg, T. Båge // *Expert reviews in molecular medicine*. – 2013. – Vol. 15. – P. e7.

497. Zhang, X. Immunolocalization of receptor activator of NF kappa B ligand in rat periapical lesions / X. Zhang, B. Peng // J. Endod. – 2005. – Vol. 31, № 8. – P. 574–577.
498. Zitzmann N. U. Definition and prevalence of peri-implant diseases / N. U. Zitzmann, T. Berglundh // Journal of clinical periodontology. – 2008. – Vol. 35, № 8. – P. 286-291.

ПРИЛОЖЕНИЕ: (расчет условной скорости резорбции опорной кости)

	
Пациент 58 лет; КП 73,5% (утрата – 26,5%), давность болезни – 10 лет	
Утрата кости соответственно возраста составляет 0,44	
Условная скорость резорбции кости 2,6% в год (медленная)	
Характер деструкции опорной кости: равномерная, преимущественно горизонтальные дефекты, замыкательные пластинки сохранены	
	
Пациент 51 год; КП 79% (утрата – 21%), давность болезни – 5 лет	
Утрата кости соответственно возраста составляет 0,41	
Условная скорость резорбции кости 4,2% в год (умеренная)	
Характер деструкции опорной кости: Сочетание угловых и горизонтальных дефектов в отдельных зонах челюстей, дефекты отдельных фуркаций, замыкательные пластинки сохранены	

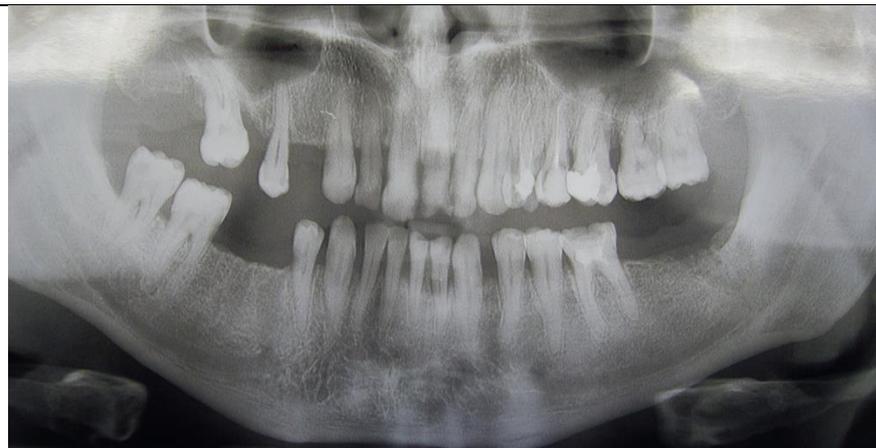


Пациент 45 лет; КП 46% (утрата – 54%), давность болезни – 8 лет

Утрата кости соответственно возрасту составляет 1,2

Условная скорость резорбции кости 6,7% в год (быстрая)

Характер деструкции опорной кости: Неравномерная, сочетание угловых и горизонтальных дефектов, дефекты фуркаций, есть зоны с нарушением замыкательных пластинок



Пациент 44 года; КП 51% (утрата – 49%), давность болезни – 6 лет

Утрата кости соответственно возрасту составляет 1,1

Условная скорость резорбции кости 8,1% в год (быстрая)

Характер деструкции опорной кости: Неравномерная, сочетание угловых и горизонтальных дефектов, дефекты фуркаций, есть зоны с нарушением замыкательных пластинок

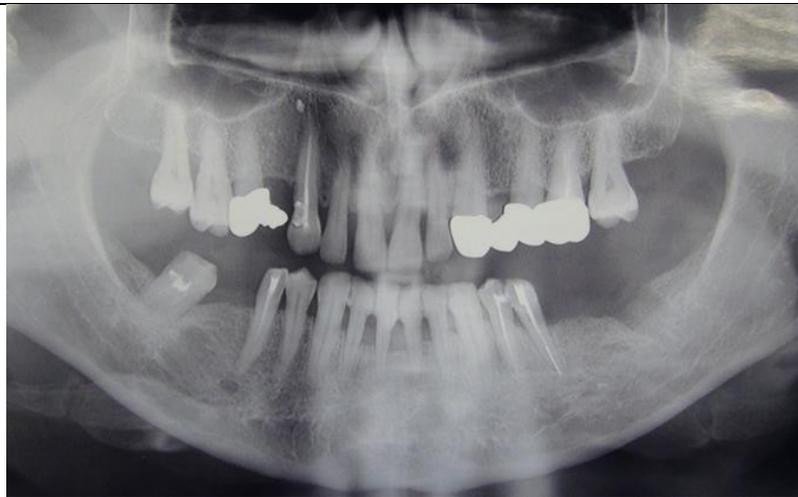


Пациент 52 года; КП 69% (утрата – 31%), давность болезни – 7 лет

Утрата кости соответственно возрасту составляет 0,59

Условная скорость резорбции кости 4,4% в год (умеренная)

Характер деструкции опорной кости: Сочетание угловых и горизонтальных дефектов в отдельных зонах челюстей, дефекты отдельных фуркаций, замыкательные пластинки сохранены



Пациент 59 лет; КП 56% (утрата – 44%), давность болезни – 11 лет

Утрата кости соответственно возрасту составляет 0,74

Условная скорость резорбции кости 4,0% в год (умеренная)

Характер деструкции опорной кости: Сочетание угловых и горизонтальных дефектов в отдельных зонах челюстей, дефекты отдельных фуркаций, замыкательные пластинки сохранены