

САРКИСЯН НАРИНЕ ГРИШАЕВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ
ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА КАК ОСНОВАНИЕ
ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ПАРОДОНТИТА**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Екатеринбург – 2018

Работа выполнена в лаборатории иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии УрО РАН и на кафедре терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Научные консультанты:

Доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки Российской
Федерации

Тузанкина
Ирина Александровна

Доктор медицинских наук, профессор

Ронь Галина Ивановна

Официальные оппоненты:

Академик РАН, доктор медицинских
наук, профессор, директор ФГБУН
«Научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени
Пастера»

Тотоян Арег Артемович

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий лабораторией
экспериментальной и клинической
фармакологии ФГБУ «НМИЦ Детской
гематологии, онкологии и иммунологии
им. Д.Рогачева» Минздрава России

Козлов Иван Генрихович

Доктор медицинских наук, профессор
зав. кафедрой стоматологии
Медицинского университета «Реавиз»

Шумский Александр
Владимирович

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Челябинск).

Защита состоится «29» ноября 2018 года в 10-00 часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 004.027.02 на базе ИИФ УрО РАН (620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106)

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН и на сайте ИИФ УрО РАН - <http://iip.uran.ru>, с авторефератом – на сайте ВАК РФ <http://vak2.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2018 года

Ученый секретарь Совета Д 004.027.02
на базе ИИФ УрО РАН,
д.м.н., профессор, ЗДН РФ

И.А. Тузанкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. По данным ВОЗ болезни пародонта встречаются более чем у 90 % взрослого населения. Несмотря на интенсивные исследования патогенеза и характера развития пародонтита, не выделены значимые маркеры в развитии заболевания (Сафонова А.В. и др., 2011).

Увеличивается количество публикаций, подтверждающих связь пародонтита с различными хроническими заболеваниями, среди которых атеросклероз (Папанов П.Н., 2013) и ассоциированные с ним сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет, гастроэнтерологические и нефротические заболевания, ожирение, метаболический синдром, заболевания щитовидной железы и другие (Ambrósio L.M., et al., 2017). Среди этиологических факторов пародонтита указывают различные бактериальные агенты, такие как *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia (forsythenis)* и *Treponema denticola*, которые могут активировать воспалительный процесс в тканях пародонта (Dosseva-Panova V.T., 2014; Freitas A.O., et al., 2014). Несомненно, что в патогенезе такого мультифакториального заболевания, как пародонтит, большую роль играет баланс взаимоотношений микроорганизмов и макроорганизма. При хроническом пародонтите происходит колонизация микроорганизмов в десневой борозде, которая активирует механизмы врожденного иммунитета в тканях пародонта (Han M.X., 2015). Устранение зубных отложений и последующая антисептическая обработка являются важными компонентами лечения, при этом широко используются антисептические растворы (Блашкова С.Л., 2009; Токмакова С.И., 2014).

Одним из терапевтических направлений является сохранение микробиоты в полости рта (Грудянов А.И., 2014). При этом наблюдается недостаточное внимание исследователей к физическим методам локального воздействия на ткани пародонта. Физиотерапевтические методы позволяют снизить развитие побочных явлений, связанных с реакциями гиперчувствительности (Грачева Е.В., Гриценко Е.А., 2013).

Удаление патогенов из десневых карманов физическими методами, может стать эффективной составляющей комплексного лечения пародонтита, поскольку направлено на уменьшение воспалительных процессов и повреждения тканей.

Значимым научно обоснованным направлением в исследованиях последних десятилетий является учение о врожденном иммунитете. Оно охватывает различные факторы, обеспечивающие первую линию защиты против первичного инфицирования или рецидивирования болезней путем ограничения

распространения микроорганизмов и активации адаптивного иммунитета (Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., 2011).

На эпителиальных клетках и клетках врожденного иммунитета расположены Toll-подобные рецепторы (TLRs), которые распознают патогены и индуцируют продукцию цитокинов, противомикробных пептидов (ПМП) и хемокинов, которые способствуют миграции клеток иммунной системы в очаг инфекционного поражения и участвуют в обеспечении противомикробных эффектов (Aslani A., 2016). Недостаточная выработка противомикробных пептидов может быть важнейшим фактором, определяющим хроническое персистирование инфекции на слизистых оболочках (Волошина В.С., Еловицова Т.М., 2011). Однако причина такого дефицита до сих пор остается малоизученной.

Имеются единичные публикации об исследованиях, касающихся ассоциации полиморфных маркеров в генах врожденного иммунитета с риском развития болезней пародонта, наиболее изучены их белковые продукты (Kadkhodazadeh M., et al., 2013). Практически отсутствуют данные о маркерах в генах противомикробных пептидов (дефенсинов), которые являются одними из основных факторов защиты слизистой оболочки рта (Tesse R., et al., 2008). При различных патологических процессах, в том числе в органах и тканях полости рта, важной задачей исследований является поиск генетических маркеров-предикторов в генах врожденного иммунитета (TLR, дефенсинов, цитокинов). Полученные данные позволят прогнозировать развитие и тяжесть воспалительных болезней пародонта.

Остаются неразрешенными вопросы, связанные с молекулярными механизмами воспаления в пародонте. Между тем, именно этими факторами может определяться прогноз заболевания, длительность ремиссии, латентного течения пародонтита, вероятность потери зубов.

Поэтому разработка методов диагностики и лечения пародонтита, применяемых до клинического манифестирования патологии в русле комплексного молекулярно-генетического анализа, является перспективной.

Однако сложность этиопатогенеза хронического генерализованного пародонтита (ХГП) определяет необходимость разработки и внедрения новых методов терапии. При этом наиболее перспективными методами в силу их патогенетической универсальности и гомеостатической направленности терапевтического эффекта являются иммуностропные препараты. В настоящее время существующие в практической стоматологии методы лечения пародонтита не приводят к стойкой ремиссии.

Перспективным представляется использование локальных воздействий лекарственными композициями, содержащими иммуностропные препараты, что

может быть обосновано наличием молекулярно-генетических предпосылок к формированию клинических проявлений пародонтита.

Цель исследования: провести аналитическую оценку молекулярно-генетических параметров врожденного иммунитета и фенотипических проявлений пародонтита как обоснование локальной иммунотерапии с разработкой методов терапевтических воздействий на ткани пародонта.

Задачи исследования:

1. Выделить группу риска по формированию воспалительных заболеваний пародонта среди пациентов с профилактического стоматологического приема.
2. Выявить молекулярно-генетические предикторы развития пародонтита на основе исследования показателей врожденного иммунитета в клетках слизистой оболочки полости рта у пациентов с пародонтитом.
3. Проанализировать ассоциацию с развитием пародонтита полиморфных маркеров в генах рецептора *TLR2*, дефенсина *DEFβ1*, цитокинов *TNFA* и *IL10*.
4. Разработать терапевтические композиции топического применения на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля и известных иммуностропных веществ.
5. Оценить безопасность и эффективность терапевтических композиций топического применения, включающих кремнийсодержащий глицерогидрогель и иммуностропные вещества на разработанной модели хронического воспаления пародонта у лабораторных животных, крысах линии Вистар.
6. Разработать способ ультрафиолетового облучения пародонтальных карманов для местной антисептической обработки и оценить возможности его использования при хроническом пародонтите.
7. Оценить терапевтическую эффективность локальной иммунотерапии у пациентов при хроническом генерализованном пародонтите.

Методология и методы исследования. Работа выполнена на базе лаборатории иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург), кафедры терапевтической стоматологии Уральского государственного медицинского университета (г. Екатеринбург) и при участии кафедры иммунологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова (г. Москва).

Доклиническое исследование безопасности и эффективности разработанных терапевтических композиций, включающее анализ гистологических срезов тканей пародонта у 75 лабораторных крыс линии Вистар, проводилось в соответствии с рекомендациями и этическими нормами, указанными в «Европейской конвенции

по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1985), с учетом положений Хельсинской декларации, Всемирная медицинская ассоциация, 2000 г. и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине, 1999 г. Для использования биологического материала в научных целях и участия пациентов в исследовании подписано информированное добровольное согласие. Работа одобрена локальным этическим комитетом Уральского государственного медицинского университета (г. Екатеринбург).

В соответствии с поставленной целью обоснована необходимость иммунотерапии пародонтита на основании оценки молекулярно-генетических механизмов врожденного иммунитета и разработаны методы локальных терапевтических воздействий на ткани пародонта.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора. Достоверность полученных результатов исследования обеспечена обоснованностью исходных теоретических позиций, достаточным объемом материала, использованием широкого спектра адекватных клинических методов (проанализировано 1036 анкет, обследовано 360 пациентов), апробированных лабораторных тестов и сертифицированных наборов реагентов (проведен генетический анализ, определены иммунологические, микробиологические и вирусологические параметры), воспроизводимостью результатов доклинических и клинических исследований, применением современных методов и компьютерных программ статистического анализа полученных данных. Достоверность результатов подтверждена актом проверки первичной документации от 26 ноября 2017 года.

Основные положения работы доложены и обсуждены на: 2 международной научно-практической конференции «Достижения, инновационные направления, перспективы развития и проблемы современной медицинской науки, генетики и биотехнологий» (Екатеринбург, 2011); Всероссийских конгрессах «Стоматология Большого Урала» (Екатеринбург, 2012-2016); 67 и 68 Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (Екатеринбург, 2012, 2013); Объединенном иммунологическом форуме (Нижний Новгород, 2013); 15 международном конгрессе по иммунологии (Милан, Италия, 2013); Юбилейной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России «Современные проблемы иммунофармакологии, биотехнологии и цитокиновой регуляции» (Санкт-Петербург, 2014); 1 выездной университетской научно-практической

конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы стоматологии» (Санкт-Петербург, 2014); 9 Всероссийской конференции с международным участием «Иммунологические чтения в г. Челябинске» (Челябинск, 2014); объединенном иммунологическом форуме (Екатеринбург, 2014); Российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии» (Челябинск, 2014); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы стоматологии» (Уфа, 2014, 2015); IV Европейском конгрессе по иммунологии (Вена, 2015); 9 окружной научно-практической конференции «Актуальные аспекты вирусных инфекций» (Екатеринбург, 2015); 33 научно-практической конференции «Актуальные проблемы стоматологии» (Москва, 2015); Евразийском форуме «Национальное здравоохранение: международный диалог» (Екатеринбург, 2015); Пермском научном форуме (Пермь, 2015); 70, 71 Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (Екатеринбург, 2015, 2016); Всероссийской конференции с международным участием «Экспериментальная и вычислительная биомедицина» (Екатеринбург, 2016); Московском международном форуме по костно-суставной патологии (Москва, 2016); 11 Сибирском конгрессе по челюстно-лицевой хирургии и стоматологии; Всероссийском симпозиуме «Новые технологии в стоматологии», (Новосибирск, 2016); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии» (Санкт-Петербург, 2017); 16 Всероссийском научном форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (2017); 14 конференции иммунологов Урала с международным участием (Челябинск, 2017); на совместном заседании сотрудников стоматологического факультета Уральского государственного медицинского университета 2 июня 2017.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования, основной идеи, цели и задач осуществлялось совместно с научными консультантами: д.м.н., проф., ЗДН РФ, г.н.с. лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН Тузанкиной И.А., зав. кафедрой терапевтической стоматологии Уральского государственного медицинского университета, д.м.н., проф. Ронь Г.И.

Автором лично разработан план и программа исследования, проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, осуществлена статистическая обработка первичных данных, интерпретация и

анализ полученных результатов, написание и оформление рукописи диссертации, представление результатов работы в научных публикациях и в виде докладов на различных конгрессах, конференциях и форумах.

Положения, выносимые на защиту:

1. Хронический генерализованный пародонтит – иммунозависимая патология с генетическими нарушениями, при которой в генах рецептора *TLR2*, дефенсина *DEFβ1* и цитокина *TNFA* выявлены предиктивные и протективные генетические маркеры риска развития пародонтита.

2. Терапевтические композиции, разработанные на основе глицерогидрогеля кремния и иммуностропов, эффективны, что подтверждается признаками компенсаторных реакций при использовании рекомбинантного $\text{IL-1}\beta$ в виде гиперкератоза и паракератоза эпителиоцитов, при использовании азоксимера бромид – улучшением репарации тканей пародонта у крыс в виде уменьшения фокусов резорбции костной ткани.

3. Локальное применение ультрафиолетового облучения при пародонтите приводит к уменьшению микробной нагрузки в пародонтальном кармане.

4. Усовершенствование терапии при хроническом генерализованном пародонтите включает использование локальных иммуностропных препаратов, выбор которых зависит от стадии воспалительного процесса и глубины поражения тканей: рекомбинантный $\text{IL-1}\beta$ эффективен в стадии ремиссии, азоксимера бромид – в стадии ремиссии и в стадии обострения, применяемые после антисептического воздействия ультрафиолетом.

5. Патогенетически обоснованная локальная иммунотерапия пародонтита с применением разработанных терапевтических композиций и ультрафиолетового воздействия увеличивает продолжительность ремиссии.

Научная новизна исследования. Впервые выявлен дисбаланс параметров врожденного иммунитета в тканях пародонта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, проявляющийся в повышении экспрессии гена паттерн-распознающего рецептора *TLR-2* и в снижении экспрессии гена противомикробного пептида *HBD-1*, что является причиной нарушения защиты от патогенов.

Выявлены молекулярно-генетические маркеры-предикторы (полиморфные аллели генов *TLR-2*, *HBD-1* и *TNFA*), ассоциированные с пародонтитом, что позволяет до клинической манифестации заболевания проводить профилактические мероприятия.

Разработана новая топическая композиция для лечения пародонтита, включающая иммуностропные препараты. Проведена оценка эффективности

разработанных композиций на модели хронического воспаления пародонта у лабораторных животных.

Впервые определена высокая клиническая эффективность применения разработанных терапевтических композиций топического применения у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом на основе глицерогидрогеля кремния с иммунотропами, позволяющая удлинить сроки ремиссии заболевания.

Разработан и апробирован новый способ ультрафиолетового воздействия на ткани пародонта в труднодоступных местах с применением гибкого световода.

Усовершенствованы традиционные методы терапии пародонтита, включающие топические мероприятия с иммуностропными средствами, и обоснованы показания их применения в различных стадиях патогенетического процесса.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработанные и внедренные в практику усовершенствованные методы топической терапии пародонтита с использованием иммуностропных препаратов – рекомбинантного IL-1 β и азоксимера бромида в композиции с глицерогидрогелем кремния позволяют повысить эффективность лечения у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. Использование терапевтических композиций приводит к удлинению продолжительности ремиссии.

Разработанный метод ультрафиолетового воздействия для антисептической обработки пародонтальных карманов с использованием усовершенствованного проводника для портативного прибора эффективен при использовании в труднодоступных участках тканей пародонта и заменяет химические антисептические растворы, не нарушая микробиоты полости рта.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования используются при обучении в аспирантуре Института иммунологии и физиологии УрО РАН по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, по медицинским и биологическим наукам; в учебном процессе на кафедре терапевтической стоматологии Уральского государственного медицинского университета для студентов и слушателей факультета последипломного образования, а также Южно-Уральского и Тюменского государственных медицинских университетов. Полученная модель хронического пародонтита у животных используется в научных исследованиях при разработке новых лекарственных средств в лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН. Метод локального применения композиций с иммуностропными препаратами при хроническом генерализованном пародонтите внедрена в практику сети стоматологических клиник «Дента ОС»

(г. Екатеринбург); терапевтического отделения ГАУЗ СО «Полевская стоматологическая поликлиника (г. Полевской, Свердловская обл.).

Публикации. Соискатель имеет по теме диссертации 41 публикацию, в том числе: 22 – в изданиях, рецензируемых ВАК, 13 – в других изданиях, из них зарубежных – 5; монография – 1, получено 5 патентов РФ на изобретения.

Объем и структура диссертации. Диссертация включает: введение, главу обзора литературы, главу материалов и методов исследования, три главы результатов собственных экспериментальных и клинико-лабораторных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Обзор литературы включает 530 источников (337 отечественных и 193 зарубежных авторов). Диссертация изложена на 270 страницах компьютерного текста. Иллюстрации представлены 16 таблицами и 60 рисунками.

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с программой фундаментальных научных исследований государственных академий наук: № гос. регистрации 01201352044 «Иммунологические механизмы онтогенеза человека и их роль в формировании патологических состояний» Института иммунологии и физиологии УрО РАН и программы научных исследований Уральского государственного медицинского университета, регистрационный номер 116033110047-9 «Теоретическое и клиническое обоснование новых диагностических, лечебных, профилактических, реабилитационных технологий в стоматологии».

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. Для достижения цели и решения поставленных задач проведено исследование, которое состояло из экспериментального и клинического этапов, включало разработку новых иммуностропных композиций и терапевтического метода, основанного на использовании модернизированного устройства ультрафиолетового облучателя для воздействия в труднодоступных местах.

В основу работы положены результаты оценки параметров врожденного и приобретенного иммунитета, клинические наблюдения в динамике течения патологического процесса и комплексное лечение пациентов с пародонтитом, обратившихся на кафедру терапевтической стоматологии Уральского государственного медицинского университета.

После определения иммуногенетических изменений на уровне тканей слизистой оболочки полости рта необходимость создания композиций для локальной коррекции иммунных функций стала очевидной. Для подтверждения эффективности предложенных композиций проведены доклинические

исследования, в которых важное место заняла разработка коррекционных изменений комплексной терапии пародонтита, применяемой на практике, что позволило удлинить сроки ремиссии. Для достижения цели исследования поэтапно проведены экспериментальные, диагностические и терапевтические мероприятия (рисунок 1).

Критериями включения пациентов в исследуемую группу являлись:

- наличие хронического генерализованного пародонтита различной степени тяжести в стадии обострения и ремиссии;
- возраст пациентов мужского и женского пола от 25 до 65 лет;
- отсутствие обострения соматической патологии и дополнительной медикаментозной нагрузки.

Критериями исключения пациентов из исследования являлись:

- наличие непереносимости лекарственных препаратов и материалов, используемых для лечения;
- сопутствующие заболевания в стадии обострения, отягощающие лечение;
- прием лекарственных средств, назначенных по сопутствующему заболеванию;
- острые воспалительные заболевания органов и тканей полости рта;
- угрожающие жизни острые состояния/заболевания или обострение хронического заболевания (в том числе инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения), развившиеся менее чем за 6 месяцев до момента обращения за стоматологической помощью и другие тяжелые общесоматические состояния;
- отказ пациента от лечения.

Исследование проводилось в несколько этапов. Первоначально проведен опрос, в котором приняли участие 1036 пациентов, в период 2012–2016 гг., проживающие в Уральском регионе, из них 232 мужчины и 804 женщины, что соответствовало соотношению мужчин и женщин в общем потоке пациентов на стоматологическом приеме. С хроническим генерализованным пародонтитом выявлено 436 пациентов. Опросник, разработанный на кафедре терапевтической стоматологии Уральского государственного медицинского университета и лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии, содержал расширенный сбор анамнеза жизни, сведения о состоянии здоровья и характере течения общих соматических заболеваний.

По критерию включения из опрошенных пациентов была сформирована исследуемая группа в количестве 360 человек (245 женщин и 115 мужчин), имевших хронический генерализованный пародонтит различной степени тяжести в

стадии обострения и ремиссии. Средний возраст пациентов составил 43,6 года, длительность заболевания – от 2 до 10 лет.

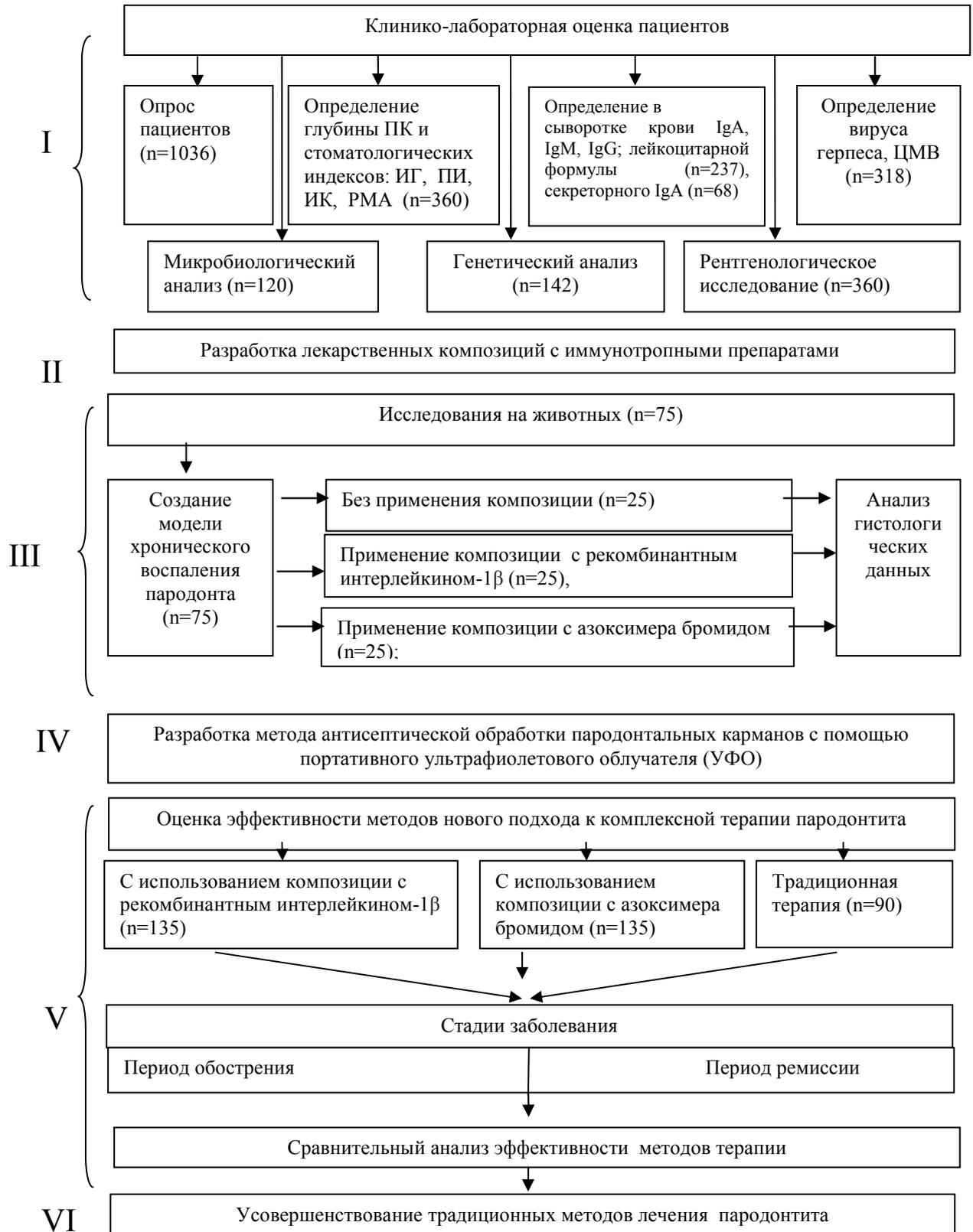


Рисунок 1 – Объём и этапность проведенного исследования

Примечание: ИГ – индекс гигиены, ПИ – пародонтальный индекс, РМА – папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс, ИК – индекс кровоточивости, ПК – пародонтальный карман, ЦМВ – цитомегаловирус, IgA, IgM, IgG – иммуноглобулины.

Формирование групп по исследованию эффективности применения глицерогидрогеля кремния с иммуностропными препаратами в комплексном лечении пародонтита проводилось методом случайной выборки, в результате которой были сформированы 2 группы пациентов с разной степенью активности заболевания. В основную группу включено 270 пациентов, которым применялись иммуностропные композиции. Группу сравнения составили 90 пациентов пролеченных по традиционной схеме без включения терапевтических композиций.

Всем пациентам проведено комплексное стоматологическое обследование, включавшее заполнение медицинской карты стоматологического больного (*форма 043/У*), сбора жалоб, анамнеза жизни, анамнеза болезни, осмотра, проведение индексной стоматологической оценки состояния полости рта [упрощенный индекс гигиены полости рта (Грина-Вермильона, 1964), папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (С. Parma, 1960), индекс кровоточивости (Kotzschke, 1975), пародонтальный индекс (Russel, 1956), индекс глубины пародонтальных карманов, подвижности зубов (Д.А. Энтин, 1954)]. Состояние костной ткани альвеолярного отростка и тела челюстей оценивали с помощью ортопантомографии, которая оценивалась до лечения, через 6 и 12 месяцев. По необходимости пациентам проводили ортопедическое лечение (снятие коронок), хирургическое (удаление зубов) и консультацию смежных специалистов.

На этом же этапе проводили забор материала для иммунологических, вирусологических, микробиологических и молекулярно-генетических исследований у пациентов с пародонтитом и без него.

Лабораторные иммунологические исследования проводили на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН (ИИФ УрО РАН) г. Екатеринбурга (научный руководитель Института – академик РАН, д.м.н., проф. Черешнев В.А.).

Гуморальные параметры иммунитета оценивали по содержанию иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови, методом иммуноферментного анализа, определение состава лимфоцитов проводили с помощью гематологического анализатора (при участии Пашниной И.А., д.б.н., в.н.с. лаборатории иммунологии воспаления ИИФ УрО РАН). Состояние локальных параметров иммунитета определяли по содержанию секреторного IgA в ротовой жидкости методом иммуноферментного анализа с использованием реактивов ООО «Вектор Бест» (РФ).

Для определения мукозальных параметров иммунитета в ротовой полости обследовано 68 пациентов, из них 12 мужчин и 56 женщин, что соответствует

частоте встречаемости при обращении на прием к стоматологу, средний возраст данной группы составил 48,2 года.

Вирусологические исследования по выявлению антигенов вируса герпеса 1 типа и цитомегаловируса проводили методом флуоресцентного анализа в мазках со слизистой полости рта (на базе «Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций» с участием д.м.н. Мальчикова И.А.). В исследовании приняли участие 318 пациентов, из них с хроническим генерализованным пародонтитом легкой, средней и тяжелой степени – 137 пациентов.

Микробиологический анализ у 120 пациентов проводился на базе кафедры биотехнологии химико-технологического института УрФУ г. Екатеринбурга. Высеяны пародонтопатогенные микроорганизмы *P. Intermedia*, *B. Forsythus*, *T. Denticola*, *A. Actinomycetem comitans*, *P. Gingivalis* методом культивирования бактерий.

Молекулярно-генетические исследования проводились на базе Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова Минздрава России (г. Москва), при содействии зав. кафедрой иммунологии, д.м.н., проф. Ганковской Л.В. и чл.-корр. РАН, д.м.н., проф. Свитич О.А.

Проведено исследование полиморфных маркеров в генах, белковые продукты которых участвуют в реакциях врожденного иммунитета: в гене противомикробного пептида – дефенсина *DEFβ-1* (маркеры *-44G/C* и *-20A/G*), в гене провоспалительного цитокина *TNFA* (маркер *-308 G/A*) и противовоспалительного цитокина *IL10* (маркер *-1082 A/G*), а также в гене рецептора врожденного иммунитета – *TLR-2* (маркеры *Arg753Gln* и *Arg677Trp*). В качестве материала для исследования использовали буккальный эпителий. Генетические маркеры определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени [«Набор для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I» (Синтол, Россия), амплификатор ДТ-96 («ДНК-технология», Россия)]. Для оценки полиморфных маркеров *Arg753Gln* и *Arg677Trp* в гене *TLR2* был использован подход, предложенный Schröder N.W. с соавторами [2003].

Лекарственные композиции (глицерогидрогель кремния с азоксимера бромидом, или с рекомбинантным ИЛ-1β) разработаны совместно с Институтом органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН при содействии академика РАН, д.х.н., проф. Чупахина О.Н., д.х.н., проф. Хониной Т.Г.

Рекомбинантный IL-1 β для создания терапевтической композиции был предоставлен НИИ особо чистых биопрепаратов (научный руководитель института, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф. Симбирцев А.С., г. Санкт-Петербург).

Экспериментальную часть научной работы на животных (создание модели пародонтита, применение композиций) проводили на базе кафедры фармакологии Уральского государственного медицинского университета, при консультированном участии д.м.н., проф. Ларионова Л.П. У лабораторных крыс создали модель хронического воспаления пародонта (патент РФ № 2545923) и оценили терапевтический эффект новых лекарственных композиций, содержащих в своем составе иммуностропные препараты. Подготовку гистологических срезов и интерпретацию полученных результатов провели на микроскопе фирмы Leica с комплексным программным обеспечением в Уральском государственном аграрном университете (г. Екатеринбург) на кафедре анатомии и гистологии, при участии заведующей кафедрой д.вет.н., проф. Дроздовой Л.И. и к.м.н., н.с. лаборатории морфологии и биохимии Института иммунологии и физиологии УрО РАН Медведевой С.Ю.

На следующем этапе разработан метод антисептической обработки пародонтального кармана с помощью ультрафиолетового облучателя на базе Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, под руководством д.ф.-м.н., проф. Жилкина Б.П.

Проведены клинические исследования по оценке эффективности разработанных методов локальной терапии с обоснованным применением иммуностропных композиций в лечении пародонтита, одобренные этическими комитетами ИИФ УрО РАН, Уральского гос. медицинского университета, при наличии добровольного информированного согласия пациентов на участие в исследованиях. Использование глицерогидрогеля кремния одобрено Комитетом по этике при федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения и социального развития.

Статистическая обработка данных проводилась в программе Microsoft Excel 2007, с использованием статистического пакета «STATISTICA 6.0», а также при использовании формул «Pearson Chi-square» и «M-L Chi-square» с помощью методов медико-биологической статистики (Гланц С., 1999; Реброва О.Ю., 2002).

Данные представлены в виде Me (25 %-75 %), где Me – медиана, (25 %-75 %) – нижний и верхний квартиль. Для анализа статистической значимости использовали критерий Краскела-Уоллиса, обобщенный U-критерий Манна-Уитни, различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$.

Ассоциацию пародонтита, а также воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области с аллелями и генотипами полиморфных вариантов маркеров в исследуемых генах определяли с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность (ожидаемые частоты ≥ 5) и точного двустороннего критерия Фишера (ожидаемые частоты < 5), сравнивая распределение генотипов и аллелей по каждому полиморфизму. Для количественной оценки силы воздействия потенциальных маркеров на риск возникновения патологии использовали показатель «отношение шансов» (с англ. *odds ratio* – *OR*).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Были проанализированы анамнестические данные пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и без признаков болезней пародонта, полученные с помощью разработанного нами опросника, включавшего вопросы о перенесенных воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО), таких как фронтит, гайморит, этмоидит, конъюнктивит, фарингит, отит, паротит, тонзиллит, стоматит, лимфаденит, а также другие острые, хронические или рецидивирующие заболевания органов дыхания или кожи и подкожной клетчатки – ларингит, трахеит, бронхит, пневмония, фурункулез.

Для подтверждения гипотезы генетической детерминированности и патогенетической общности болезней был проведен расширенный опрос пациентов стоматологического приема.

Анализ представленных данных позволил констатировать, что у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта (ВЗП) с большей частотой, чем у пациентов без ВЗП, встречались такие заболевания, как тонзиллит, паротит, фронтит и конъюнктивит. С наименьшей частотой пациенты с ВЗП имели в анамнезе отит, бронхит и трахеит.

В поиске понимания этиопатогенетических механизмов, влияющих на развитие пародонтита, были проведены различного рода лабораторные и инструментально-диагностические исследования, в том числе вирусологические.

У половины пациентов со здоровым пародонтом в эпителии слизистой оболочки полости рта был обнаружен антиген вируса простого герпеса, у пациентов с пародонтитом он не имел этиологической значимости и обнаруживался реже, чем у здоровых лиц.

Другой этиопатогенетической составляющей развития пародонтита является состояние показателей врожденного иммунитета, определяемых в ДНК, выделенной из клеток буккального эпителия. Для исследования были выбраны TLR2 – рецептор, который распознает большую часть патогенов, являющихся этиологическими факторами пародонтита; дефенсин HBD-1 (ген *DEFB1*) –

экспрессируется на постоянном уровне эпителиальными клетками пародонта и изменение (уменьшение) его количества может быть причиной роста количества патогенной микрофлоры; TNF α – провоспалительный и IL10 – противовоспалительный цитокины, которые обеспечивают баланс воспалительной реакции.

В иммунных реакциях у пациентов, имеющих риск развития болезней пародонта, участвуют иммунные параметры, такие как, TNF α , IL-6, TGF β -1, определяемые в пародонтальных карманах. IL-6 является одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления, стимулирует пролиферацию и дифференцировку В- и Т-клеток. Секретируется эпителиальными клетками, после их активации патоген-связанными молекулами (части вирусов, бактерий и грибов, липополисахариды), опосредованной TLR, также выработка стимулируется и другими медиаторами – интерлейкином 1 и фактором некроза опухоли. Была выявлена тенденция к увеличению количества провоспалительного цитокина IL-6 (показатель которого возростал в 1,5 раза) с 0,16 до 0,24 пг/мл. Избыточная продукция IL-6 может приводить к повреждению тканей, что наблюдается, например, при аутоиммунном воспалении.

Содержание другого провоспалительного цитокина TNF α у пациентов с пародонтитом (16,9 \pm 3,2 пг/мл) увеличивалось в два раза по сравнению с группой сравнения (здоровые пациенты – 8,7 \pm 2,4 пг/мл).

Баланс в воспалительных реакциях обеспечивается не только провоспалительными цитокинами, но также противовоспалительными, среди которых можно выделить TGF β -1, данный показатель достоверно возростал в 2,3 раза. TGF β -1 – это цитокин, выделяемый клеткой во внеклеточную среду, является антипролиферативным фактором в нормальных эпителиальных клетках. Увеличение противовоспалительных цитокинов у пациентов с пародонтитом может объясняться компенсаторным разрастанием ткани десны в процессе развития патологии.

Для оценки наличия или отсутствия генетической детерминированности пародонтита был проведен анализ нуклеотидных последовательностей генов отдельных иммунологических параметров – *DEFB1*, *TNFA*, *TLR2*, *IL-10*.

Было проведено исследование уровня экспрессии гена рецептора врожденного иммунитета – TLR2, который участвует в распознавании широкого спектра лигандов. TLR распознают микробные молекулы, что приводит к развитию воспалительных реакций и экспрессии провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1, IL-6).

На завершающих этапах воспаления секретируется большое количество провоспалительных цитокинов, в том числе IL-1, а также факторы роста (TGF- β 1),

которые усиливают миграцию в очаг воспаления клеток стромы (фибробластов) и эпителиальных клеток, их последующую пролиферацию. Исследование экспрессии гена *HBD-1* в эпителиальных клетках пародонта у здоровых доноров и у пациентов с хроническим пародонтитом достоверно отличался. Данный противомикробный пептид был выбран для исследования, поскольку он индуцибельно вырабатывается в ответ на воздействие инфекционных агентов. Полученные результаты свидетельствовали о том, что в клетках пародонта в норме у здоровых доноров экспрессировались гены, как распознающего рецептора TLR2, так и *HBD-1*, средние показатели которых составили 5,77 и 5,24 lg копий мРНК относительно 1 млн копий гена актина, соответственно.

В группе пациентов с пародонтитом экспрессия гена паттерн-распознающего рецептора TLR2 достоверно увеличивалась, причем, у 60 % пациентов более чем в 10 раз по сравнению со здоровыми, и составила 7,28 lg копий мРНК относительно 1 млн копий гена актина. Можно заключить, что увеличение экспрессии гена TLR2 ассоциировано с ростом продукции провоспалительных цитокинов. При этом у тех же пациентов наблюдали угнетение экспрессии гена *HBD-1* в 4 раза.

У больных с пародонтитом наблюдался дисбаланс в экспрессии рецептора врожденного иммунитета и противомикробных пептидов, что может быть предпосылкой развития тяжелых форм заболевания.

Полученные данные позволили утверждать, что при хроническом пародонтите происходило TLR-опосредованное воспаление, при этом наблюдалось увеличение продукции провоспалительных цитокинов. Имело место уменьшение экспрессии гена *HBD-1*, что свидетельствовало о функциональном снижении механизмов защиты на уровне слизистых оболочек.

Для подтверждения взаимосвязи полиморфизма некоторых генов кандидатов с локальными показателями иммунитета в тканях полости рта при хроническом генерализованном пародонтите проанализирована ассоциация полиморфных маркеров в промотерных областях генов цитокинов, которые обеспечивают баланс про- и противовоспалительных реакций в тканях пародонта. Проведен сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов полиморфных маркеров *TNFA* (-308 G/A) и *IL10* (-1082 A/G) в группе пациентов с пародонтитом.

Дисбаланс в системе цитокинов может приводить к хронической воспалительной патологии. Поэтому в качестве одной из групп сравнения была отобрана группа пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (гайморит, тонзиллит, ларингит, этмоидит, отит, трахеит, фарингит). При анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера (-308 G/A)*TNFA* у пациентов основной группы (с пародонтитом) по сравнению с

контрольной группой (здоровые доноры) достоверно чаще встречался генотип *AG* (0,53 и 0,29, соответственно, $OR=2,73$) и реже – генотип *AA* (0,09 и 0,25, соответственно, $OR=3,44$). В исследуемых группах не выявлено статистически значимых различий в распределении частот полиморфного маркера (-308 G/A) *TNFA*.

Показатели частот аллелей и генотипов в группе пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО) статистически значимо не отличались от показателей в других группах (в группе сравнения 2 – здоровые доноры и в основной группе – пациентов с пародонтитом). Однако исследуемая группа пациентов с пародонтитом имела достоверные отличия от группы здоровых доноров (группа сравнения 2 – *таблица 1*).

Таблица 1 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *G(-308)A* в гене *TNFA*

<i>TNFA</i> <i>G(-308)A</i>	Аллели		Генотипы		
	<i>A</i>	<i>G</i>	<i>AA</i>	<i>GG</i>	<i>AG</i>
Основная группа (пародонтит) n=67	0,35	0,65	0,13	0,38	0,53
Группа сравнения 1 (ВЗЧЛО) n=48	0,32	0,68	0,12	0,46	0,44
Основная группа (пародонтит) n=67	0,35	0,65	0,09*	0,38	0,53*
Группа сравнения 2 (норма) n=27	0,40	0,60	0,25	0,46	0,29
Группа сравнения 1 (ВЗЧЛО) n=48	0,32	0,68	0,10	0,46	0,44
Группа сравнения 2 (норма) n=27	0,40	0,60	0,25	0,46	0,29

Примечание: * - показатель достоверно отличался от показателя в группе сравнения 2 (здоровые доноры), $p \leq 0,05$.

На следующем этапе проводили исследование распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера цитокина *IL10* (-1082 A/G) в анализируемых группах. При сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *IL10* (-1082 A/G) статистически значимых различий в группе с пародонтитом и с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО) (группа сравнения 1), а также с показателями в группе здоровых доноров (группа сравнения 2) не было выявлено.

На основании полученных данных по ассоциации полиморфных маркеров в промотерных областях генов цитокинов с риском развития пародонтита, выявлена ассоциация генотипа *AG* полиморфного маркера *G(-308)A* гена *TNFA* с пародонтитом, при этом генотип *AA* – оказался протективным (частота выше, чем в группе здоровых доноров).

Исследуемый полиморфный маркер гена *TLR2* приводил к замене аминокислотной последовательности рецептора *TLR2* и, вследствие этого, нарушалось распознавание лиганда и передача сигнала с рецептора. Изменения в рецепторе, распознающем условно-патогенную микрофлору, могут привести к нарушению *TLR*-опосредованным механизмам врожденного иммунитета, как в ткани пародонта, так и на уровне других слизистых.

Для определения достоверных различий между генетическими признаками, проведен сравнительный анализ распределений аллелей и генотипов полиморфного маркера *Arg753Gln*, локализованного в районе TIR-домена *TLR-2* между группой пациентов с пародонтитом, группой пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО) и контрольной группой (здоровые доноры).

В группе пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО) частота аллеля *Gln* преобладала над частотой аллеля *Arg*, а встречаемость генотипа *GlnArg* преобладала над другими генотипами. Следует отметить, что в группе с пародонтитом соотношение частот аллелей и генотипов было сопоставимо с показателями в группе сравнения.

В группе пациентов с пародонтитом частота аллеля *Gln* (0,83 и 0,61, OR= 3,18) и гомозиготного генотипа *Gln/Gln* (0,70 и 0,33, OR=4,67) была достоверно выше, чем в группе пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО). Также было выявлено достоверное увеличение частоты гетерозиготного генотипа *Gln/Arg* в группе пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО), по сравнению с группой здоровых доноров и основной группой (0,56 и 0,22, OR= 4,37).

При исследовании распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера *Arg677Trp* гена *TLR-2* в группе пациентов с пародонтитом, в группе пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО) (группа сравнения 1) и в группе здоровых доноров (группа сравнения 2) определено преобладание частоты аллеля *Trp* над частотой аллеля *Arg* и встречаемости генотипа *TrpTrp* над встречаемостью генотипов *TrpArg* и *ArgArg* во всех исследуемых группах. Отличия распределения аллелей и генотипов в группе пациентов с пародонтитом и в группе здоровых доноров были недостоверны.

Однако следует отметить, что у пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ВЗЧЛО) отсутствовал генотип *Arg/Arg* и были выявлены статистически значимые отличия в определении гетерозиготного варианта генотипа. Так, в группе пациентов с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области частота генотипов *TrpArg* составила 0,5, что достоверно

выше, чем в основной группе – 0,24.

Анализ полученных данных по ассоциации полиморфных маркеров в кодирующей области гена *TLR-2* с пародонтитом и ВЗЧЛО позволил выявить следующие маркеры риска развития пародонтита – аллеля *Gln* и гомозиготного генотипа *Gln/Gln* (*Arg753Gln* в гене *TLR-2*). Также получены данные о том, что гетерозиготный генотип *TrpArg* является протективным в случае пародонтита (*Arg677Trp* в гене *TLR-2*).

На следующем этапе был проведен анализ распределения частот гаплотипов. Поскольку полиморфные маркеры локализованы на одной хромосоме, более того – в одном гене, они входят в одну группу сцепления и можно оценить распределение гаплотипов, а также их ассоциацию с риском развития пародонтита. Во всех выборках доминировал гаплотип *753Gln/Gln – 677Trp/Trp*.

Анализируя полученные по гаплотипам данные, можно отметить, что гаплотип *Arg/Gln – Trp/Arg* ассоциирован с риском развития пародонтита, а гаплотип *Gln/Gln – Trp/Arg* является «протективным» относительно развития воспалительной патологии органов челюстно-лицевой области.

Также проводилось исследование ассоциации полиморфных маркеров в гене *DEFB1* с риском развития пародонтита и воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области. *DEFB1* был выбран случайно, он вырабатывается конститутивно (на постоянном уровне) в слизистой оболочке, кроме того, ген данного дефенсина представлен в единственном числе в геноме (гены других дефенсинов имеют несколько копий, что влияет на их экспрессию и сильно затрудняет исследования).

Полиморфные маркеры *G(-20)A* и *C(-44)G* в гене *DEFB1* локализовались в 5'-нетранслируемой области гена. Предположительно данные SNPs (однонуклеотидной замены) не приводят к изменению аминокислотной последовательности, но могут влиять на уровень экспрессии гена дефенсина. Ассоциация данных полиморфных маркеров с патологиями пародонта до настоящего времени не исследовалась. Различия в распределении аллелей полиморфного маркера *A(-20)G* между исследуемыми группами были статистически недостоверными. Однако, генотип *GG* являлся «протективным» относительно группы пациентов с воспалительной патологией органов челюстно-лицевой области. Также можно констатировать отсутствие ассоциации полиморфного маркера *A(-20)G* гена *DEFB1* и пародонтита.

При исследовании распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера *-44C/G* (*rs1800972*) установлено, что во всех группах доминировала аллель *C*. Выявлена ассоциация аллеля *G* и генотипа *GG* с воспалительными

заболеваниями челюстно-лицевой области. Соответственно, генотип *GG* в группе с пародонтитом является «протективным» относительно группы сравнения 1.

При анализе распределения частот гаплотипов *G(-20)A-C(-44)G* в гене *DEFB1* во всех группах не выявлялся гаплотип *GG-GG*. Выявлена ассоциация гаплотипов *AG-CC* и *AG-GC* с риском развития пародонтита, а гаплотип *AA-CC* – оказался протективным. С воспалительной патологией органов челюстно-лицевой области был ассоциирован только гаплотип *AG-GC*.

На основании полученных данных можно заключить, что маркеры в гене *IL10* не ассоциированы с пародонтитом. В однонуклеотидном полиморфизме (SNP) гена *TNFA* выявлены два маркера: один ассоциирован с риском развития пародонтита – *GA*, другой – протективный – *AA*. В генах распознающего рецептора врожденного иммунитета и дефенсина выявлены как маркеры риска развития исследуемой патологии, так и протективные маркеры. При пародонтите наблюдались изменения в факторах иммунитета на генетическом уровне, на экспрессионном (дисбаланс рецепторов TLR и противомикробных пептидов HBD) и на уровне белков (генетических продуктов) – увеличение концентрации цитокинов в тканях пародонта (таблица 2).

Таблица 2 – Достоверные отличия исследуемых групп по генетическим параметрам, определенным как маркеры риска или устойчивости к развитию пародонтита

Фактор врожденного иммунитета	Генетические маркеры, достоверно отличающие группу пациентов с пародонтитом от группы сравнения 1	Генетические маркеры, достоверно отличающие группу пациентов с пародонтитом от группы сравнения 2
<i>TLR-2</i>	<i>Gln753</i> <i>Gln753Gln</i> <i>Arg753Gln</i> <i>ArgTrp677</i>	<i>ArgGln753-TrpArg677</i>
<i>IL-10</i>	-	-
<i>TNFA</i>	-	<i>GA(-308)</i> <i>AA(-308)</i>
<i>DEFB1</i>	<i>GG(-44)</i>	<i>AG(-20)-GC(-44)</i> <i>AG(-20)-CC(-44)</i> <i>AA(-20)-CC(-44)</i>

Примечание: группа сравнения 1 (пациенты с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области): отличие в гене *TLR-2* аллеля *Gln753* и гомозиготного генотипа *Gln/Gln753*, гетерозиготных генотипов *ArgGln753* и *ArgTrp677*; отличие в гене *DEFB1* (*HBD-1*) генотип *GG(-44)*. Группа сравнения 2 (здоровые доноры): отличие в гене *TLR2* – гаплотип *ArgGln753-TrpArg677*; в гене *TNFA* – генотип *GA(-308)* и *AA(-308)*; в гене *DEFB1* (*HBD-1*) – гаплотипы *AG(-20)-GC(-44)* и *AG(-20)-CC(-44)*, *AA(-20)-CC(-44)*, красным цветом обозначены маркеры риска развития пародонтита, синим – маркеры устойчивости к развитию пародонтита.

Таким образом, выявленные молекулярно-генетические маркеры могут быть использованы в прогнозировании развития пародонтита и служить обоснованием при необходимости применения иммуотропных воздействий для эффективного купирования патологии.

Иммунологические факторы, которые могут потенциально участвовать в патогенезе пародонтита – компоненты мукозального иммунитета – иммуноглобулины. Для оценки иммунологических параметров на системном уровне 237 пациентов были разделены на две группы: 1 группа – с воспалительными заболеваниями пародонта (ВЗП) (123 чел.), 2 группа – здоровые доноры без признаков ВЗП (114 чел.). Критерием исключения из группы являлось обострение хронических заболеваний, прием лекарственных средств и отказ от участия в исследовании.

Между исследуемыми группами не были выявлены достоверные отличия по анализируемым клеточным параметрам в периферической крови: общее количество лейкоцитов, моноцитов, нейтрофилов, базофилов, эозинофилов, по концентрации сывороточных иммуноглобулинов А, М и G, что подтвердилось статистической обработкой полученных лабораторных данных с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса.

Более информативными могли оказаться тесты, оценивающие функционирование иммунных механизмов непосредственно в очаге развития патологии, а не в периферической крови.

Одним из наиболее часто определяемых лабораторных параметров при пародонтите в научных исследованиях, является определение концентрации секреторного IgA, подтверждающего состояние адаптивного иммунитета полости рта.

Однако по полученным данным остается спорным вопрос об информативности показателей секреторного IgA в диагностике пародонтита, так как при отсутствии пародонтологической патологии также наблюдались повышенные концентрации IgA в слюне.

Это возможно, поскольку границы референтных значений гораздо шире используемых в практическом здравоохранении, и полученные результаты могут укладываться в эти значения. Повышение показателей секреторного IgA при отсутствии патологии пародонта и видимых стоматологических изменений может являться адаптационным свойством или реакцией на начальное воздействие вирусов, микроорганизмов и других агрессивных агентов, не имеющих клинических проявлений.

Следует учитывать, что иммунологическое обеспечение локального воспалительного процесса при достаточном функциональном резерве должно купировать патологическое состояние. При этом один лабораторный параметр IgA не может быть свидетельством интегральной, комплексной работы иммунной системы и организма в целом. Он может быть информативным при его определении в динамике патологического и терапевтического процессов.

Выявленные изменения анализируемых иммунологических параметров, оцениваемых в эпителии слизистой полости рта, то есть в очаге хронического воспаления, являются обоснованием применения иммуностропных терапевтических препаратов топического применения при пародонтите.

В результате выполненной работы нами были получены иммунологические маркеры, которые могут быть включены в комплексную диагностику прогнозирования развития и течения пародонтита, а также стать обоснованием для иммуностропных вмешательств.

Следующий раздел исследования посвящен разработке новых терапевтических подходов, для этого были проведены исследования *in vivo* (на модели лабораторных животных – крыс линии Вистар).

Экспериментальное исследование тканей пародонта на модели хронического воспаления пародонта у лабораторных животных.

В нашем исследовании использовались крысы-самцы линии Вистар с исходной массой 170-180 г. Животные содержались в одинаковых условиях: по 5 крыс в клетке на обычном рационе вивария со свободным доступом к пище и воде при температурном режиме $20\pm 2^{\circ}\text{C}$.

На кафедре фармакологии Уральского государственного медицинского университета (г.Екатеринбург) была разработана модель хронического воспаления пародонта (патент РФ № 2545923, 2015г.), которая использована в нашей работе. Доказано, что травматизация пародонта методом введения иглы в межзубное пространство на нижней челюсти приводит к хроническому воспалению в пародонте, которое подтверждалось хронизацией процесса на 25-е сутки эксперимента. В соответствии с этим созданная модель пародонтита позволяет проанализировать действие уже существующих фармакологических препаратов, а также может использоваться при поиске или создании новых лекарственных форм в исследованиях при хроническом воспалительном процессе и для достоверного подтверждения правильности выбора иммуностропной композиции в лечении хронического пародонтита.

Была проведена оценка эффективности новых двух топических композиций, применяемых у лабораторных крыс линии Вистар ($n = 75$). Первая композиция

содержала кремнийорганический глицерогидрогель ($\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 6\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$) и рекомбинантный IL-1 β , вторая композиция – кремнийорганический глицерогидрогель и азоксимера бромид.

Животные были разделены на 3 группы по 25 особей соответственно. В 1 группе (контрольной) медикаментозного воздействия не осуществлялось. Во 2 группе применяли фармакологическую композицию состава: раствор рекомбинантного IL-1 β (лекарственная форма рекомбинантного IL1 β) – 0,1 %, и кремнийсодержащий глицерогидрогель. В 3 группе применяли – кремнийорганический глицерогидрогель, модифицированный добавлением азоксимера бромида. В последующие 10 дней, сразу после извлечения иглы, на слизистую оболочку десны в место травматизации аппликационно 1 раз в сутки наносились соответствующие композиции в каждой группе. После окончания лечения, на 5-е, 10-е, 15-е, 20-е и 25-е сутки животные были выведены из эксперимента по 5 особей из каждой группы с последующей резекцией нижней челюсти, которую фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. Изготавливались декальцинированные срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике для дальнейшего гистологического исследования. Все болезненные процедуры выполнялись в соответствии Хельсинской декларацией о гуманном отношении к животным.

У крыс контрольной группы, не получавших лечения, в динамике развития хронического воспаления в тканях пародонта на ранних сроках эксперимента (5 и 10 сутки) отмечались признаки выраженного экссудативного воспаления, обусловленного миграцией сегментоядерных лейкоцитов, нарушением проницаемости стенки сосудов, развитием отека на фоне формирования грануляционной ткани (рисунки 3-6). Это приводило к деструктивным изменениям связочного аппарата и костной альвеолы зуба (рисунки 7-8).

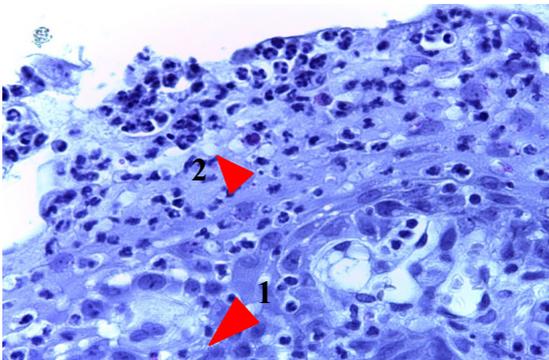


Рисунок 3 - Мягкие ткани пародонта крыс контрольной группы животных на 5-е сутки после окончания лечения.
1. Фокусы некроза **2. Интенсивная лейкоцитарная инфильтрация** (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 630)

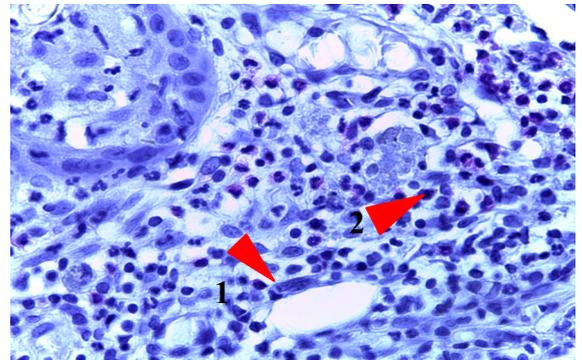


Рисунок 4 – 1. Сосуды синусоидального типа в грануляционной ткани пародонта **2. Интенсивная лейкоцитарная инфильтрация с примесью лимфоидных элементов** (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 630)

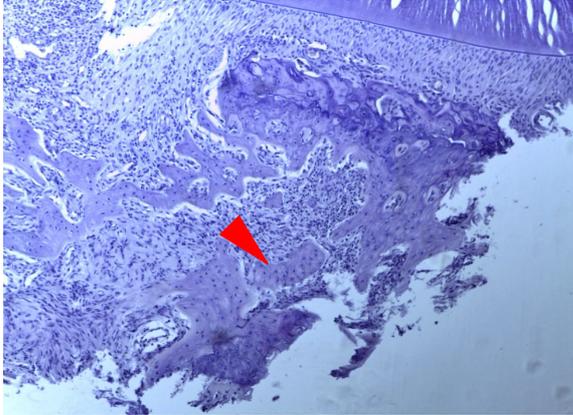


Рисунок 5 - Фокусы некроза костной альвеолы в проекции травматизации у крыс контрольной группы животных на 10-е сутки после окончания лечения (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 100)

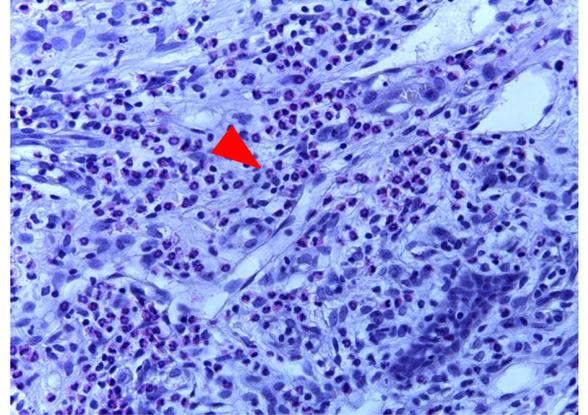


Рисунок 6 - Грануляции слизистой десны с интенсивной лейкоцитарной инфильтрацией на 10-е сутки после окончания лечения (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

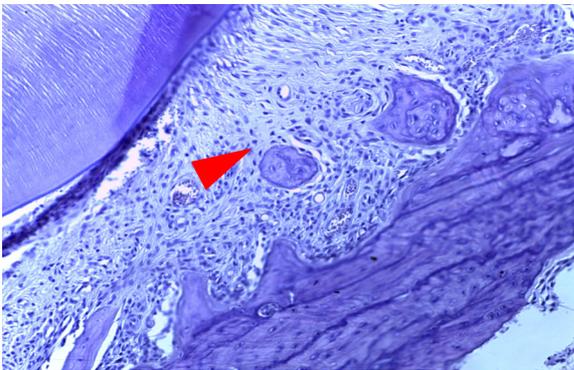


Рисунок 7 - Зубодесневое соединение у крыс контрольной группы животных на 15-е сутки после окончания лечения. Формирование грануляций в очагах травматизации (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

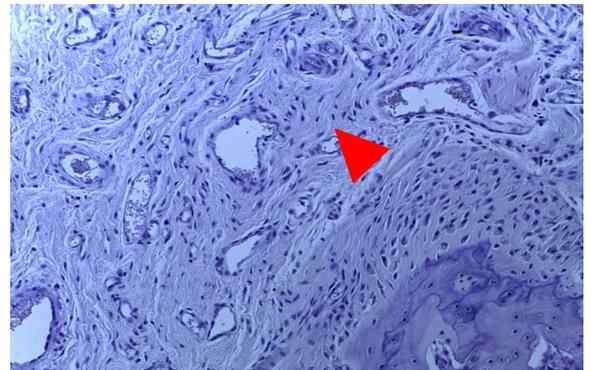


Рисунок 8 - Формирующиеся грануляции пародонта у крыс контрольной группы животных на 15-е сутки после окончания лечения (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

К 20-м и 25-м суткам стихала интенсивность воспаления, определялись признаки продуктивного воспаления с участием иммунокомпетентных клеток лимфоидного ряда и тучных клеток. Это приводило к запуску процессов регенерации и формированию зрелой грануляционной ткани, при этом отмечался

процесс формирования грубой соединительной ткани (рубца), признаки деструкции кости сохранялись (рисунки 9, 10, 11, 12).

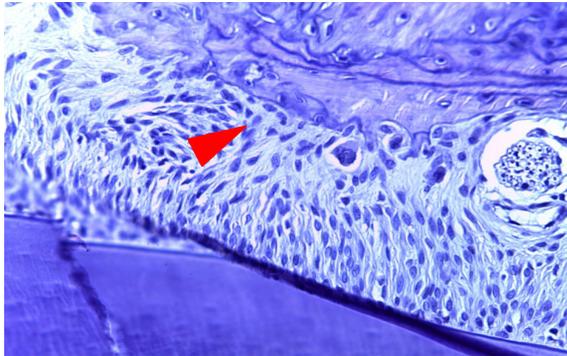


Рисунок 9 - Связочный аппарат зуба и костной альвеолы у крыс контрольной группы животных на 20-е сутки после окончания лечения. Фокусы резорбции кости с участием остеокластов (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 630)

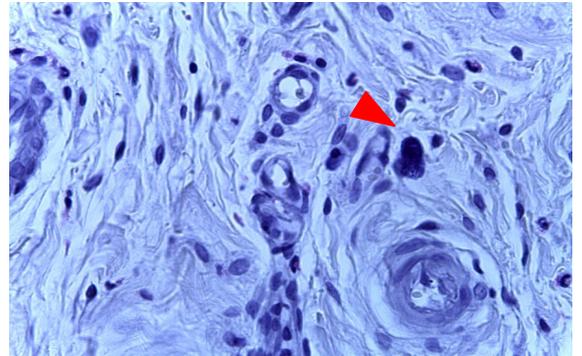


Рисунок 10 - Грануляции мягких тканей пародонта крыс контрольной группы животных на 20-е сутки после окончания лечения. Периваскулярная локализация тучных клеток (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

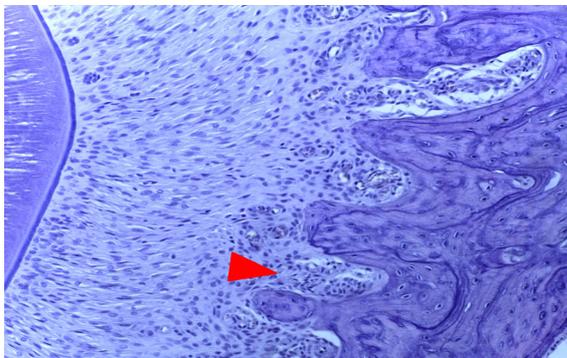


Рисунок 11 - Зубодесневое соединение крысы контрольной группы животных на 25-е сутки после окончания лечения. Умеренная лейкоцитарная инфильтрация связочного аппарата (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

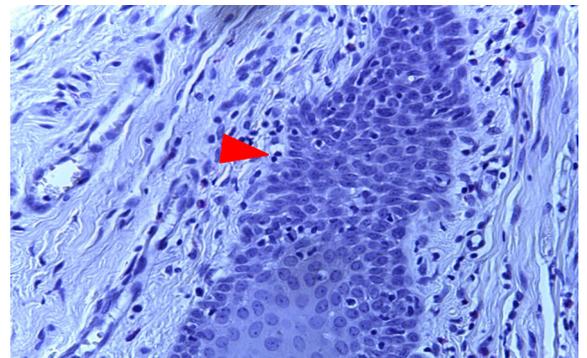


Рисунок 12 - Слизистая оболочка десны крысы контрольной группы животных на 25-е сутки после окончания лечения. Лейкоцитарная инфильтрация базальных слоев слизистой и подслизистой (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

Структурные изменения в тканях пародонта у экспериментальных животных с моделированным пародонтитом при использовании композиции с рекомбинантным ИЛ-1 β . После окончания лечения на 5-е и 10-е сутки интенсивность экссудативного воспаления была менее выражена по сравнению с контрольной группой, но отмечалось трансмуральное распространение

инфильтрата на прилежащие ткани и увеличение площади поражения (рисунки 13, 14, 15, 16).

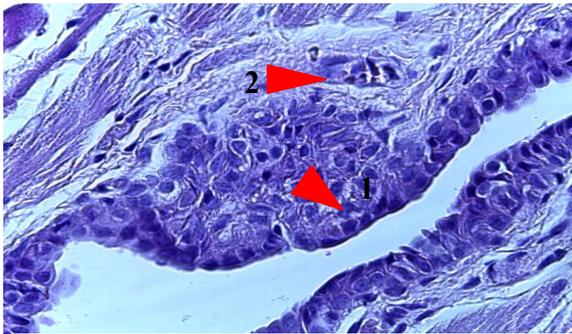


Рисунок 13 - Слизистая оболочка десны на 5-е сутки после окончания лечения. 1. Фокус акантоза с утолщением слизистой. 2. Периваскулярные лимфоидные инфильтраты (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 630)

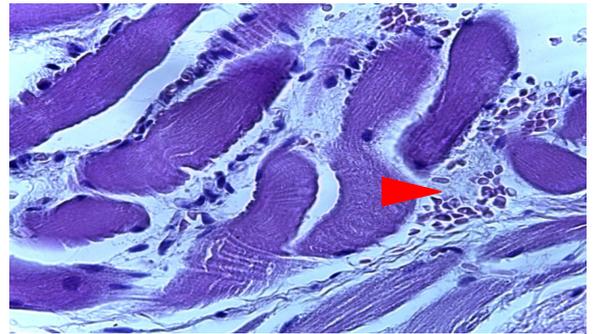


Рисунок 14 - Инфильтрация и фокусы кровоизлияния эндомизия у крыс 2-ой опытной группы на 5-е сутки после окончания лечения (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 630)

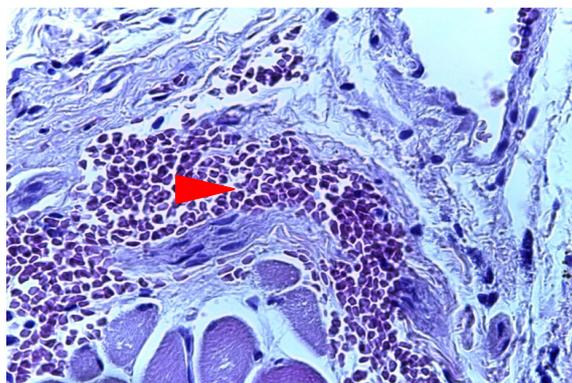


Рисунок 15 - Мягкие ткани пародонта экспериментальных животных при использовании композиции с рекомбинантным IL-1 β на 10-е сутки. Полнокровные сосуды, лейкодиapedез в соединительной ткани (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 630)

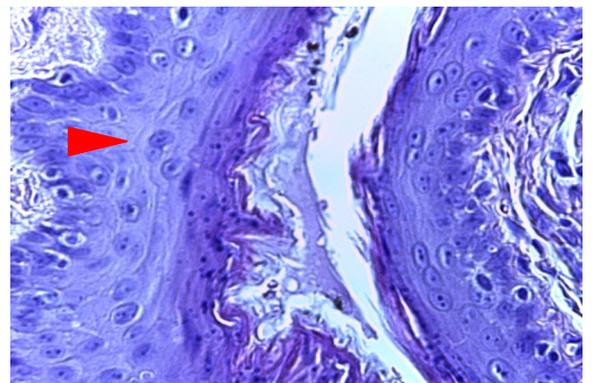


Рисунок 16 - Слизистая оболочка десны на 10-е сутки после окончания лечения. Очаговый гиперкератоз слизистой (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 630)

К 15-м суткам признаки острой фазы воспаления сохранялись, но менялся характер инфильтрата. В нем присутствовали лимфоциты, плазматические и тучные клетки. При этом нарастали процессы разрушения костного матрикса, костной альвеолы с деструкцией связочного аппарата (рисунки 17, 18).

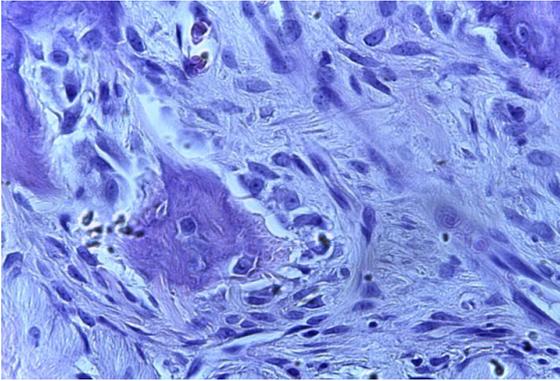


Рисунок 17 – Формирование грануляционной ткани в проекции резорбции кости на 15-е сутки после окончания лечения при использовании композиции с рекомбинантным IL-1 β (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 630)

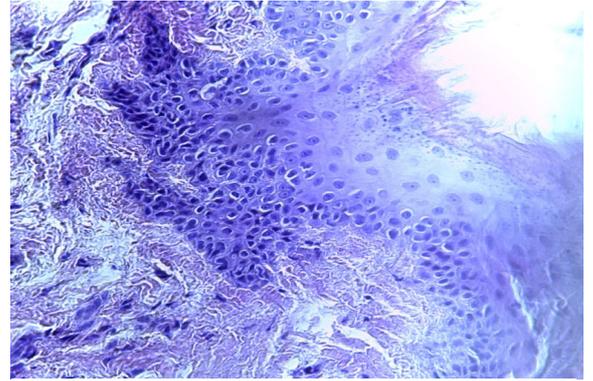


Рисунок 18 – Очаговый акантоз слизистой оболочки десны на 15-е сутки после окончания лечения при использовании композиции с рекомбинантным IL-1 β (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

На 20-е и 25-е сутки после окончания лечения мы наблюдали процессы восстановления фокусов резорбции кости на фоне сохраняющегося экссудативного воспаления в мягких тканях пародонта (*рисунки 19, 20*).

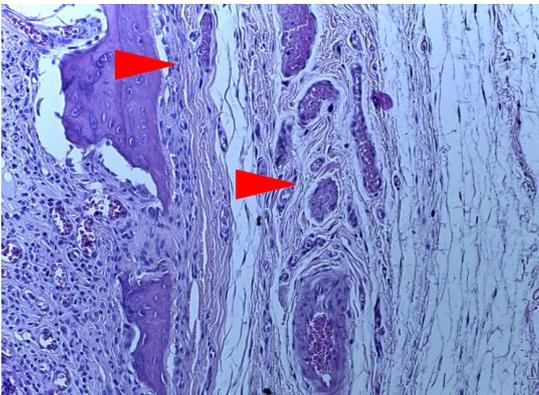


Рисунок 19 – Формирование остеоида в фокусах резорбции кости на 20-е сутки после окончания лечения при использовании композиции с рекомбинантным IL-1 β (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 200)

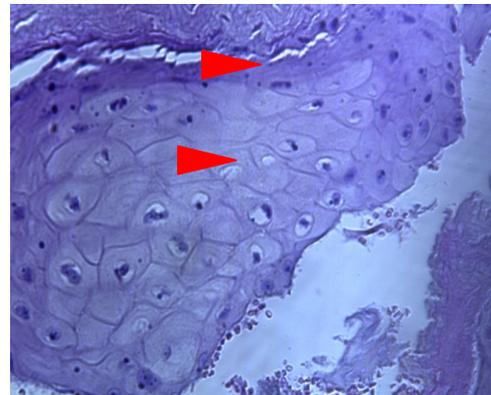


Рисунок 20 – Слизистая оболочка десны с фокусом паракератоза клеток на 25-е сутки после окончания лечения при использовании композиции с рекомбинантным IL-1 β (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

Следовательно, применение композиций с рекомбинантным IL-1 β вызывало и поддерживало экссудативное воспаление в мягких тканях пародонта и влияло на процессы репарации кости. Слизистая оболочка в данные сроки исследования была без выраженных деструктивных изменений. Определялись признаки компенсаторных реакций в виде гиперкератоза и паракератоза эпителиоцитов.

Структурные изменения в тканях пародонта у экспериментальных животных с моделированным пародонтитом при использовании композиции с азоксимера бромидом.

Эпителий десны на 5-е сутки был сохранен, но отмечалась десквамация и набухание рогового слоя (*рисунки 21, 22*).

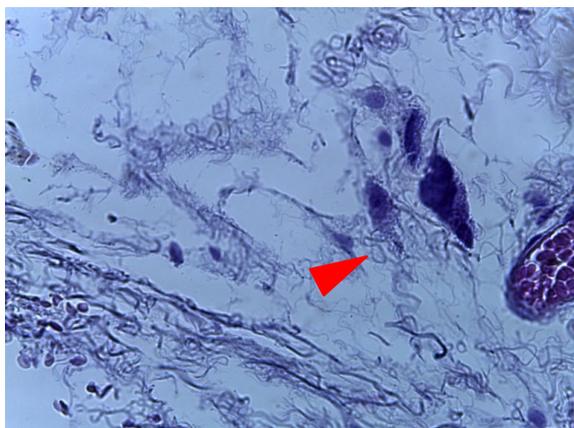


Рисунок 21 - Миграция и дегрануляция тучных клеток в мягких тканях пародонта на 5-е сутки эксперимента при использовании композиции с азоксимера бромидом (окр. гематоксилином и эозином, ув. х630)

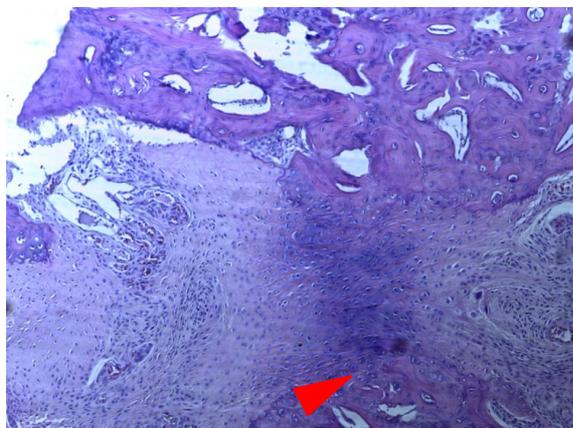


Рисунок 22 - Зубодесневое соединение, фокусы резорбции кости на 5-е сутки эксперимента при использовании композиции с азоксимера бромидом (окр. гематоксилином и эозином, ув. х100)

На 10-е сутки эксперимента в части случаев в проекции зубодесневой связки определялись абсцессы с признаками незавершенной инкапсуляции (*рисунки 23, 24*).

Применение композиции с азоксимера бромидом у экспериментальных животных в динамике лечения хронического пародонтита выявило положительный эффект данного препарата, который снижал интенсивность экссудативной фазы воспаления и запускал процессы репарации уже на 15-е сутки (*рисунки 25, 26*).

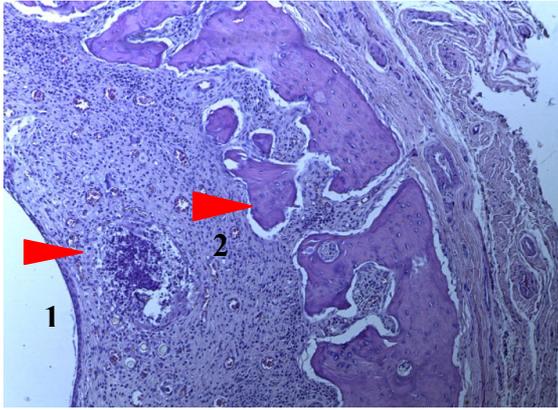


Рисунок 23 - Экссудативное воспаление в структурах связочного аппарата с 1. формированием микроабсцесса 2. локусы резорбции кости на 10-е сутки эксперимента у животных при использовании композиции с азоксимера бромидом (окр. гематоксилином и эозином, ув. x100)

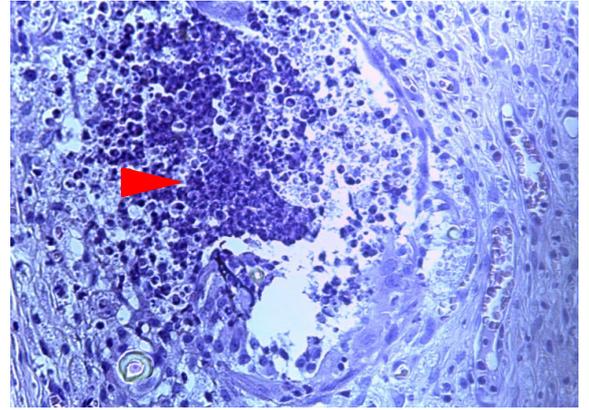


Рисунок 24 - Абсцесс в зубодесневом соединении с признаками инкапсуляции на 10-е сутки эксперимента на животных при использовании композиции с азоксимера бромидом (окр. гематоксилином и эозином, ув. x400)

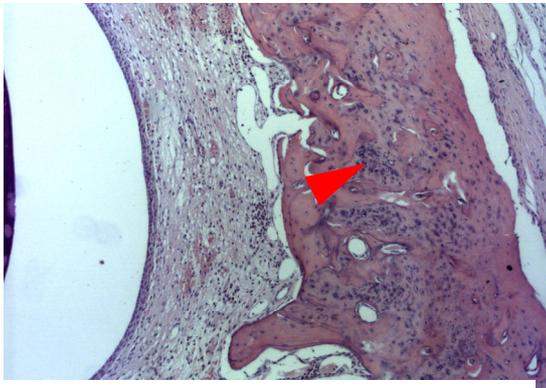


Рисунок 25 - Диффузная инфильтрация зубодесневой связки с лимфоцитами и сегментоядерными лейкоцитами на 15-е сутки при использовании композиции с азоксимера бромидом (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 200)

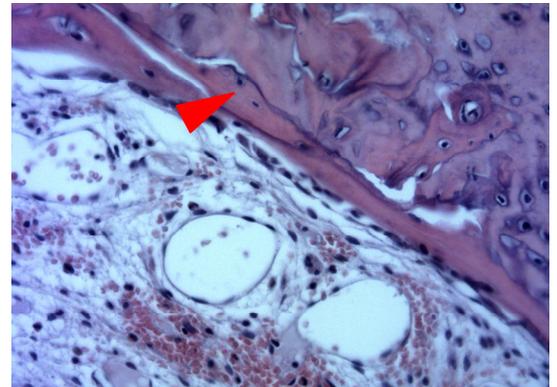


Рисунок 26 - Пролиферация остеобластов в костной альвеоле на 15-е сутки эксперимента при использовании композиции с азоксимера бромидом (окр. гематоксилином и эозином, ув. x 400)

На 20-е сутки эксперимента у животных в костных альвеолах определялись очаги ангиоматоза, что свидетельствовало об усилении трофики и запуске процессов восстановления костного матрикса (рисунок 27). В мягких тканях

пародонта определялись полнокровные сосуды с наличием «сладж-комплексов» и минимальная инфильтрация лимфоидными элементами (рисунки 28). В ряде случаев обнаруживалось формирование гранул, представленных лимфоидными элементами и многоядерными клетками инородных тел (рисунки 29).

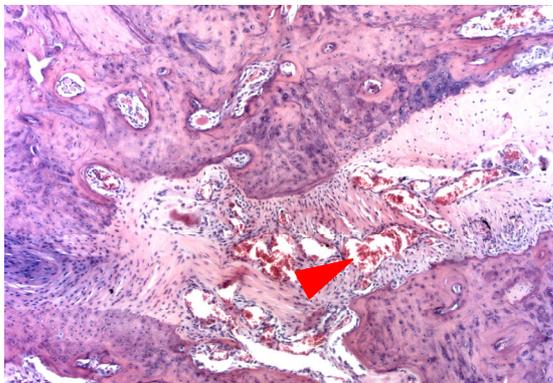


Рисунок 27 – Очаги ангиоматоза костной альвеолы у животных 3-ей опытной группы на 20-е сутки эксперимента (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 200)

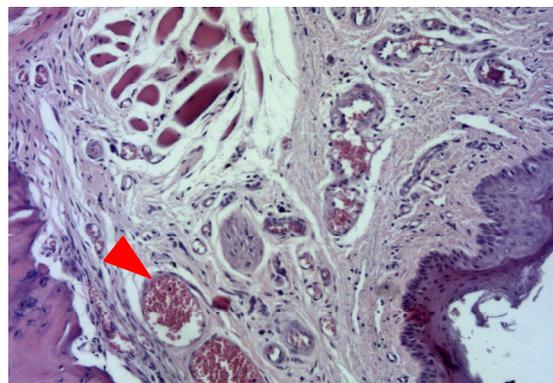


Рисунок 28 - Полнокровные сосуды мягких тканей пародонта у животных 3-ей опытной группы на 20-е сутки эксперимента (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 200)

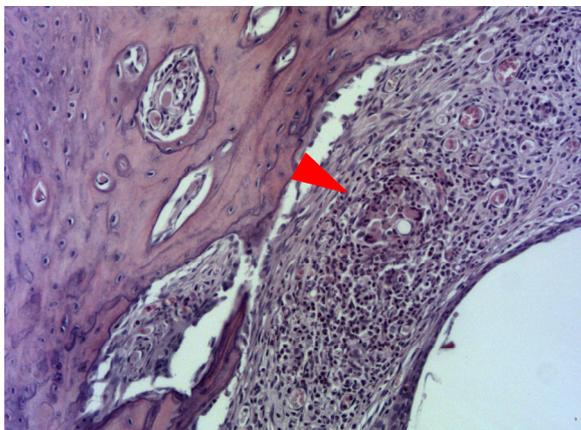


Рисунок 29 - Формирование гранулемы у животных 3-ей опытной группы на 20-е сутки эксперимента (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 200)

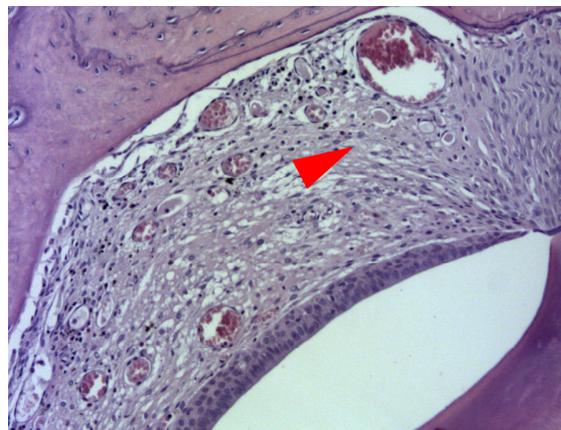


Рисунок 30 - Зубодесневое соединение у животных 3-ей опытной группы на 25-е сутки эксперимента. Умеренный отек, полнокровные сосуды (окр. гематоксилином и эозином, ув. х 200)

К 25-м суткам эксперимента мы не наблюдали фокусов резорбции кости, а структурные изменения связочного аппарата и мягких тканей пародонта были минимальны (рисунки 30).

Резюмируя вышеизложенное, можно констатировать, что в группе, в которой не производилось медикаментозных воздействий (первая группа исследования), наблюдались процессы регенерации альвеолярной кости и соединительнотканной структуры, также, как и во второй и третьей группах. При этом формировалась зрелая грануляционная ткань, признаки деструкции кости сохранялись, заживление подслизистого слоя происходило по типу рубцевания, что исключало возможность восстановления функций пародонта в полном объеме и, как следствие, возникла вероятность рецидивов заболевания.

Гистологический анализ тканей, использованный для оценки применения композиции препарата рекомбинантного IL-1 β и кремнийорганического глицерогидрогеля при хроническом воспалительном заболевании пародонта у крыс (вторая группа исследования), подтвердил процесс заживления. Рекомбинантный IL-1 β , обладающий иммуностимулирующим действием, повышал функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов, усиливал пролиферацию лимфоцитов, что и подтвердилось в композиции с глицерогидрогелем кремния.

К концу наблюдения были получены свидетельства сохранившейся резорбции альвеолярной кости при увеличении капиллярного русла в зоне хронического воспалительного процесса. Определялись признаки компенсаторных реакций в виде гиперкератоза и паракератоза эпителиоцитов, слизистая оболочка оставалась без выраженных деструктивных изменений.

В третьей группе иммуномодулирующие свойства азоксимера бромида благоприятно повлияли на процесс репарации тканей пародонта у крыс, наблюдались фокусы резорбции кости, а структурные изменения связочного аппарата и мягких тканей пародонта были минимальны. Композиция с азоксимера бромидом влияла на фагоцитирующие клетки и тем самым подтвердила основной механизм действия препарата.

Можно предположить, что для предотвращения образования гнойно-некротических процессов и сокращения времени репарации тканей пародонта было бы целесообразным использование данных лекарственных композиций в комплексном лечении болезней пародонта.

Для обоснования эффективного подхода к медикаментозному лечению ХГП с заявленными композициями требовалось проведение дальнейших клинических исследований.

Оценка состояния тканей пародонта у пациентов с ХГП при применении нового комплексного подхода к лечению. В оценке состояния тканей пародонта приняли участие 360 пациентов с хроническим

генерализованным пародонтитом, давшие добровольное информированное согласие на участие в исследовании (таблица 3).

Таблица 3 – Распределение пациентов с пародонтитом по группам в зависимости от применяемой терапии

Хронический генерализованный пародонтит различной степени тяжести в стадии обострения и ремиссии (n=360)				
Терапия	Стадия	Обострения		Ремиссия
		Группа 1 (n = 120)	Группа 2 (n = 120)	Группа 3 (n = 120)
С применением рекомбинантного интерлейкина-1 β		Группа 1.1 (n = 45)	Группа 2.1 (n = 45)	Группа 3.1 (n = 45)
С применением азоксимера бромидом		Группа 1.2 (n = 45)	Группа 2.2 (n = 45)	Группа 3.2 (n = 45)
По традиционной схеме, без применения иммуностропной композиции		Группа 1.3 (n = 30)	Группа 2.3 (n = 30)	Группа 3.3 (n = 30)

Исследуемые были разделены на 3 группы, по 120 пациентов в каждой. Группу 1 и 2 составили пациенты с хроническим генерализованным пародонтитом легкой, средней и тяжелой степени в стадии обострения, группу 3 – в стадии ремиссии. В группе 1 лечение с использованием иммуностропных средств применялось с первого дня начала терапии. В группе 2 – после окончания применения противомикробных средств.

Пациенты из групп сравнения (90 человек) были пролечены по традиционной схеме, при которой использовались: в стадии обострения – антисептическая обработка пародонтального кармана и противомикробная терапия, в стадии ремиссии – антиоксидантные средства.

Группе пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения, лечение которым проводили с первого дня, дополнительно обрабатывали пародонтальные карманы ультрафиолетовым облучением, затем наносился препарат (композиция с иммуностропным препаратом рекомбинантного ИЛ-1 β или азоксимера бромидом) 1 раз в день в течение 10 дней. Для сравнения с этой группой использовали промывание пародонтальных карманов – хлоргексидин биглюконатом 0,1 % в течение 10 дней.

Пациентам с ХГП различной степени тяжести в стадии обострения, которым использовали в лечении композиции, антисептическая обработка пародонтальных карманов проводилась ультрафиолетовым облучением (90 пациентов).

У других 30 пациентов ультрафиолетовое облучение при лечении хронического генерализованного пародонтита легкой, средней и тяжелой степени в

стадии обострения не использовалось, пародонтальные карманы обрабатывались хлоргексидин биглюконатом 0,1 %. Определение количественного и качественного состава микроорганизмов в пародонтальном кармане до и после лечения проводилось методом культивирования.

Анализ результатов исследования пациентов с ХГП, которым применяли УФО и композицию с рекомбинантным IL-1 β , и группы пациентов с применением антисептической обработки.

Количество *V. Forsythus* в пародонтальных карманах у пациентов с применением УФО и композиции рекомбинантного IL-1 β легкой, средней, тяжелой степени уменьшился на 43,7 %, 31,8 %, 33,8 %, соответственно, тогда как в группе с антисептической обработкой на – 8,3 %, 13,9 %, 7,6 %, что свидетельствовало о меньшей эффективности по сравнению с локальным облучением ультрафиолетом.

Количество *P. Gingivalis* в пародонтальных карманах у пациентов с применением УФО и композиции рекомбинантного IL-1 β легкой, средней, тяжелой степени уменьшился – на 63,5%, 60,5 %, 48,1 %, соответственно, тогда как в группе с антисептической обработкой – на 27,7 %, 23,3 %, 24,3 % (таблица 4).

Микроорганизмы *T. Denticola*, *A. Actinomycetemcomitans* в группе с УФО при легкой и средней тяжести по окончании лечения не обнаружены. При ХГП тяжелой степени количество *P. Intermedia* уменьшился на 38,3 %. В группе с антисептической обработкой после лечения были выделены те же микроорганизмы с незначительным уменьшением количества.

Анализ результатов исследования пациентов с ХГП, которым применяли УФО и композицию с азоксимера бромидом, и группы пациентов с применением антисептической обработки.

Количество *V. Forsythus* в пародонтальных карманах у пациентов с применением УФО и композиции с азоксимера бромидом легкой, средней, тяжелой степени уменьшился на 54,6 %, 37,0 %, 23,3 %, соответственно, тогда как в группе с антисептической обработкой на – 8,3 %, 14,0 %, 18,7 %, что свидетельствовало о меньшей эффективности по сравнению с локальным облучением ультрафиолетом.

Таблица 4 – Микробный спектр содержимого десневых карманов до и после лечения у пациентов с ХГП при использовании ультрафиолетового облучения (n=90) с применением рекомбинантного интерлейкина-1 β , азоксимера бромидом и антисептического раствора (n=30) M \pm m, КОЕ/ед.

Количество КОЕ/ед. в группе пациентов с ХГП легкой степени тяжести (n = 40), с применением						
Представители пародонтогенной микрофлоры	До лечения			После лечения		
	антисептического раствора (n=10)	УФО и композиции рекомбинантного интерлейкина 1 β (n=15)	УФО и композиции азоксимера бромидом (n=15)	антисептического раствора (n=10)	УФО и композиции рекомбинантного интерлейкина 1 β (n=15)	УФО и композиции азоксимера бромидом (n=15)
<i>P. Intermedia</i>	1,36 \pm 0,13	1,65 \pm 0,31	1,46 \pm 0,13	1,71 \pm 0,21	0*	0*
<i>B. Forsythus</i>	2,53 \pm 0,13	2,54 \pm 0,61	2,47 \pm 0,14	2,32 \pm 0,54	1,43 \pm 0,12	1,12 \pm 0,32
<i>T. Denticola</i>	1,32 \pm 0,43	1,43 \pm 0,21	1,52 \pm 0,12	1,54 \pm 0,21	0,0*	0,0*
<i>A.Actinomycetem comitans</i>	0,67 \pm 0,23	0,45 \pm 0,65	0,38 \pm 0,14	0,43 \pm 0,57*	0,0*	0,0*
<i>P. Gingivalis</i>	4,47 \pm 0,36	3,32 \pm 0,14	3,54 \pm 0,13	3,23 \pm 0,56	1,21 \pm 0,12	1,34 \pm 0,10
Количество КОЕ/ед. в группе пациентов с ХГП средней степени тяжести (n =40), с применением						
	До лечения			После лечения		
<i>P. Intermedia</i>	1,42 \pm 0,14	1,44 \pm 0,12	1,40 \pm 0,42	1,31 \pm 0,34	0*	0*
<i>B. Forsythus</i>	2,44 \pm 0,12	2,26 \pm 0,53	2,45 \pm 0,13	2,10 \pm 0,71	1,54 \pm 0,32	1,13 \pm 0,36
<i>T. Denticola</i>	1,83 \pm 0,31	1,67 \pm 0,30	1,58 \pm 0,32	1,62 \pm 0,35	0,0*	0,0*
<i>A.Actinomycetem comitans</i>	0,84 \pm 0,22	0,79 \pm 0,24	0,67 \pm 0,23	0,38 \pm 0,18*	0,0*	0,0*
<i>P. Gingivalis</i>	4,47 \pm 0,36	3,32 \pm 0,14	3,36 \pm 0,36	3,43 \pm 0,21	1,31 \pm 0,14	1,51 \pm 0,12
Количество КОЕ/ед. в группе пациентов с ХГП тяжелой степени тяжести (n =40), с применением						
	До лечения			После лечения		
<i>P. Intermedia</i>	1,21 \pm 0,14	2,14 \pm 0,64	1,17 \pm 0,32	0,89 \pm 0,52	1,32 \pm 0,12*	0,0*
<i>B. Forsythus</i>	2,62 \pm 0,15	2,72 \pm 0,31	2,32 \pm 0,13	2,13 \pm 0,15	1,80 \pm 0,51	1,78 \pm 0,15
<i>T. Denticola</i>	1,65 \pm 0,12	1,50 \pm 0,18	2,46 \pm 0,14	1,29 \pm 0,18	0,0*	1,20 \pm 0,18
<i>A.Actinomycetem comitans</i>	1,15 \pm 0,53	1,91 \pm 0,16*	1,64 \pm 0,17*	0,66 \pm 0,17*	0,0*	0,0*
<i>P. Gingivalis</i>	3,62 \pm 0,24	3,22 \pm 0,14	3,54 \pm 0,21	2,74 \pm 0,34*	1,67 \pm 0,13*	1,45 \pm 0,12*

Примечание: * - показатель достоверно отличался от исходного после лечения, p \leq 0,05.

Количество микроорганизмов *P. Gingivalis* в пародонтальных карманах у пациентов с применением УФО и композиции с *азоксимера бромидом* легкой, средней, тяжелой степени уменьшился – на 62,1 %, 55,1 %, 23,4 %, соответственно, тогда как в группе с антисептической обработкой – на 14,3 %, 23,2 %, 20,3 %.

Микроорганизмы *P. Intermedia*, *A. Actinomycetemcomitans* в группе с УФО при легкой и средней степени тяжести по окончании лечения не обнаружены. При ХГП тяжелой степени количество *T. Denticola*, уменьшился на 51,2 %. В группе с антисептической обработкой после лечения были выделены те же микроорганизмы с незначительным уменьшением количества.

Статистически достоверных различий между группами с применением композиций с рекомбинантным интерлейкином-1 β и *азоксимера бромидом* не выявлено.

Таким образом, разработанный способ лечения хронического пародонтита, обеспечивает высокий терапевтический эффект. При этом исключается возможность развития побочных аллергических реакций и других нежелательных явлений при использовании химических растворов. Локальное антисептическое воздействие позволяет сохранить микрофлору всей полости рта, что невозможно при применении жидких антисептических препаратов.

Клинико-рентгенологическая оценка состояния тканей пародонта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом различной степени тяжести в стадии обострения.

В группе пациентов с ХГП в стадии обострения, в лечении которых использовалась композиция с рекомбинантным IL-1 β , наблюдалось стойкое гноетечение из пародонтальных карманов, которое прекратилось после отмены композиции. У пациентов с ХГП средней степени тяжести выявлено ухудшение индекса гигиены полости рта до удовлетворительных значений через 6 (с $1,2 \pm 0,2$ до $1,7 \pm 0,8$) и 12 месяцев (до $1,8 \pm 0,2$).

В группе пациентов, пролеченных по традиционной схеме, наблюдалось достоверное уменьшение показателей папиллярно-альвеолярного индекса и индекса кровоточивости у пациентов с ХГП легкой и средней степеней тяжести, по сравнению с группой, в которой применялась композиция с рекомбинантным IL-1 β .

Индекс кровоточивости у пациентов подгруппы 1.2, в которой использовали *азоксимера бромид*, уменьшился по сравнению с исходными показателями. Значимыми являются изменения показателей в подгруппе пациентов с ХГП средней степени тяжести – на 81,8 % (с $1,2 \pm 0,6$ до $0,2 \pm 0,2$) через 6 месяцев после лечения и на 34,5 % (до $0,8 \pm 0,6$) через 1 год, тяжелой степени заболевания – на

90,9 % (с $1,4 \pm 0,1$ до $0,1 \pm 0,8$) через 6 месяцев после лечения и на 87,4 % (до $0,2 \pm 0,9$) через 1 год. Анализируя показатели пародонтального индекса, мы выявили статистически значимое улучшение состояния пародонта, в подгруппе с легкой степенью заболевания на 58 % (с $1,4 \pm 0,4$ до $0,6 \pm 0,1$) через 6 месяцев и на 72 % (до $0,4 \pm 0,1$) через 12 месяцев.

Пародонтальный индекс подгруппы 1.2 у пациентов с ХГП средней и тяжелой степени достоверно не изменился.

По данным клинико-рентгенологического исследования процессы регенерации костной ткани статистически значимо не отличались ни в одной из групп.

Результаты проведенного клинического исследования свидетельствуют о том, что использование глицерогидрогеля кремния в композиции с иммуностропными препаратами – рекомбинантным ИЛ-1 β и азоксимера бромидом – в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита всех степеней тяжести в периоде обострения оказалось более эффективным, чем традиционное лечение.

При этом продолжительность ремиссии болезни после применения композиции с иммуностропными препаратами оказались выше, чем в группе пациентов, пролеченных без применения композиций.

Самый короткий срок ремиссии (4,6 месяца) наблюдался при лечении по традиционной схеме, без включения топических композиций. Ремиссия в течение 7,2 месяца наблюдалась при лечении терапевтической композицией с рекомбинантным ИЛ-1 β . И самая продолжительная (9,3 месяца) – при использовании терапевтической композиции с азоксимера бромидом.

Следующим этапом являлось использование данных композиций на других стадиях развития заболевания для определения эффективности применения композиций.

Анализ клинических данных позволил резюмировать, что и в группе пациентов, пролеченных по традиционной схеме, и в группе пациентов с ХГП различной степени тяжести в стадии обострения после завершения противомикробной терапии (подгруппа 2.1 и подгруппа 2.2), получавших композиции с иммуностропными препаратами, после проведенного комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита, нормализовались гигиенические показатели, улучшились значения папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса. Индекс кровоточивости у всех пациентов подгруппы 2.2 (с азоксимера бромидом) уменьшился через 6 и 12 месяцев после лечения. У пациентов ХГП легкой степени тяжести ИК уменьшился на 75,2 % (с $1,1 \pm 0,9$ до

0,3±0,2) через 6 месяцев после лечения и на 84,07 % (до 0,2±0,2) через 1 год. У пациентов с ХГП средней степени тяжести ИК уменьшился на 48,3 % (с 1,2±0,4 до 0,6±0,3) через 6 месяцев после лечения и на 65,5 % (до 0,4±0,1) через 1 год. У пациентов с ХГП тяжелой степени ИК уменьшился на 47,7 % (с 1,5 ± 0,1 до 0,8±0,2) через 6 месяцев после лечения и на 54,2 % (до 0,7±0,7) через 1 год.

У пациентов группы 2.1 (с применением рекомбинантного IL-1β после противомикробной терапии) и группы 2.3 (с традиционным лечением) индекс кровоточивости достоверно не отличался от исходного уровня.

При использовании композиции с рекомбинантным IL-1β возобновлялось появление гнойного отделяемого, которое прекращалось сразу после отмены препарата. Это объясняется активацией воспалительного процесса, обеспечивавшего в последующем эффективную репарацию, что и было продемонстрировано далее. При использовании композиции с азоксимера бромидом признаков повторного обострения не наблюдалось, что подтверждало более щадящее воздействие композиции с азоксимера бромидом на ткани пародонта.

Через 6 и 12 месяцев после проведенного комплексного лечения в группе сравнения 2.3, где использовалось традиционное лечение, ухудшались гигиенические показатели, значения папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса, наблюдалась кровоточивость, отек десны.

Показатели пародонтального индекса и высоты деструкции костной ткани межзубных перегородок на рентгенограмме в обеих группах не имели статистически значимых отличий, они соответствовали значениям степеней тяжести пародонтита как после лечения, так и через 6 и 12 месяцев.

По данным клинико-рентгенологического исследования в подгруппах, получавших иммуностропные композиции, в отличие от группы с традиционным лечением, процессы регенерации костной ткани достоверно отличались, что сопровождалось более значительным уменьшением степени подвижности зубов у пациентов этих групп.

Ремиссия процесса была различной продолжительности – самая короткая (4,3 месяца) наблюдалась при лечении по традиционной схеме, без включения топических композиций. Ремиссия в течение 9,2 месяца наблюдалась при лечении терапевтической композицией с рекомбинантным IL-1β. И самая продолжительная (9,5 месяца) – при использовании терапевтической композиции с азоксимера бромидом.

Для оценки терапевтического эффекта разработанных нами композиций с иммуностропными препаратами на всех стадиях развития хронического

генерализованного пародонтита далее был проанализирован результат применения данных композиций в стадии ремиссии заболевания.

Клинико-рентгенологическая оценка состояния тканей пародонта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом различной степени тяжести в стадии ремиссии

Анализ клинической симптоматики позволил резюмировать, что в группе с ХГП в стадии ремиссии (группа 3), пролеченной по традиционной схеме (подгруппа 3.3) и в группе (подгруппа 3.1 и подгруппа 3.2), получавшей композиции с иммуностропными препаратами, после проведенного комплексного лечения нормализовались гигиенические показатели.

В группе пациентов, получавших композиции с рекомбинантным IL-1 β и азоксимера бромидом в стадии ремиссии, через 6 и 12 месяцев после лечения гигиеническое состояние полости рта оставалось на хорошем уровне (критерий оценки по Грину-Вермильону), наблюдались динамические признаки улучшения состояния тканей пародонта. Тогда как в подгруппе, пролеченной по традиционной схеме в стадии ремиссии, через 6 и 12 месяцев после лечения достоверно ухудшались гигиенические показатели, увеличивались значения папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса, наблюдалась кровоточивость, отек десны, пародонтальные карманы отсутствовали, статистически значимых изменений высоты деструкции костной ткани межзубных перегородок на рентгенограмме не было выявлено.

По данным клинико-рентгенологического исследования в группе с применением композиций в стадии ремиссии, в отличие от группы с традиционным лечением, через 6 и 12 месяцев отмечалось уменьшение и местами исчезновение очагов резорбции в костной ткани альвеолярного отростка.

Продолжительность ремиссии была различной – самая короткая 5,2 месяца наблюдалась при лечении по традиционной схеме, без включения топических композиций. Ремиссия в течение 10,6 (в 2 раза) месяца наблюдалась при лечении терапевтической композицией с рекомбинантным IL-1 β . И самая продолжительная 11,2 месяца (в 2.1 раза) – при использовании терапевтической композиции с азоксимера бромидом.

На основании данных проведенного нами клинического исследования можно резюмировать, что использование препарата глицерогидрогеля кремния в композиции с иммуностропными препаратами в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита в стадии ремиссии позволило получить значительно более высокий терапевтический эффект, чем тот, который

был достигнут в случае применения только лекарственных препаратов, без предложенных композиций.

Разработанные новые методы лечения ХГП с применением локального УФО воздействия и композиций глицерогидрогеля кремния с азоксимера бромидом в стадии обострения и глицерогидрогеля кремния с рекомбинантным ИЛ-1 β в стадии ремиссии расширяют терапевтические возможности и повышают их эффективность (таблица 5).

Использование предложенного лечения пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом позволило удлинить стадию ремиссии за счет улучшения репаративных процессов.

Таблица 5 – Изменения в традиционной терапии хронического генерализованного пародонтита

№ п/п	В стадии обострения	В стадии ремиссии
1.	Антисептическая обработка пародонтальных карманов УФО	_____
2.	Топические иммуностропные препараты – композиция с азоксимера бромидом (назначение после противомикробной терапии при любой степени тяжести заболевания)	Топические иммуностропные препараты – композиция с рекомбинантным ИЛ-1 β при пародонтите легкой степени тяжести или с азоксимера бромидом при пародонтите средней и тяжелой степеней

На основании данных проведенного нами клинического исследования можно резюмировать, что использование глицерогидрогеля кремния в композиции с иммуностропными препаратами при комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита позволяет достичь более высокого терапевтического эффекта при условии применения их с учетом стадии заболевания.

Применение композиций с глицерогидрогелем кремния способствовало удлинению стадии ремиссии при любой степени тяжести, что позволило успешно управлять качеством оказываемой помощи и эффективно реабилитировать пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

Таким образом, проведенное исследование позволило сделать следующие выводы.

ВЫВОДЫ

1. Группу риска возникновения воспалительных заболеваний пародонта формируют пациенты, имеющие хронические заболевания челюстно-лицевой области, полости рта и придаточных пазух носа, составляющих до 30 % пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

2. В однонуклеотидной последовательности (SNP) гена *TNFA*, в генах распознающего рецептора врожденного иммунитета *TLR2* и дефенсина *DEFB1* выявлены маркеры риска развития пародонтита, маркеры в гене *IL-10* не ассоциированы с пародонтитом.

3. Выявлена ассоциация полиморфных маркеров в генах врожденного иммунитета с риском развития пародонтита: в гене *TNFA* – генотип *GA*, в гене *TLR2* – гаплотип *ArgGln753-TrpArg677* и в гене *DEFB1* – гаплотипы *AG(-20)-GC(-44)* и *AG(-20)-CC(-44)*; протективными маркерами в гене *TNFA* являются генотип *AA* и в гене *DEFB1* гаплотип *AA(-20)-CC(-44)*.

4. Композиции, разработанные на основе глицерогидрогеля кремния, включающие иммуностропные препараты азоксимера бромид $0,01 \div 0,04$ мас.% и рекомбинантный $IL-1\beta$ $(5,00 \div 10,00) \cdot 10^{-8}$ мас.%, обладают иммуностропным действием при топическом применении.

5. Разработанные терапевтические композиции, обладающие экспериментально доказанной эффективностью их использования, благоприятствуют процессу репарации тканей пародонта: при применении композиции с рекомбинантным $IL-1\beta$ определялись признаки компенсаторных реакций в виде гипер- и паракератоза эпителиоцитов, при использовании композиции с азоксимера бромидом – очаги ангиоматоза, что свидетельствовало об усилении трофики и запуске процессов восстановления костного матрикса.

6. Проведение ультрафиолетового облучения пародонтальных карманов с использованием разработанного нами способа у пациентов с пародонтитом уменьшает микробную нагрузку.

7. Продолжительность ремиссии хронического генерализованного пародонтита при лечении композициями с иммуностропными препаратами увеличивается по сравнению с традиционными методами: в стадии обострения при применении азоксимера бромида после завершения противомикробной терапии – до 9,5 месяца (в 2,2 раза); в стадии ремиссии при легкой степени тяжести с $IL-1\beta$ – до 10,6 месяца (в 2,0 раза), с азоксимера бромидом – до 11,2 месяца (в 2,1 раза).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В практической деятельности врача-стоматолога необходимо раннее применение профилактических мероприятий, что обусловлено высокой вероятностью развития пародонтита у лиц с воспалительными заболеваниями слизистой челюстно-лицевой области.

2. Целесообразно при лечении пародонтита проводить обработку пародонтальных карманов ультрафиолетовым облучением, применяя разработанный нами способ с использованием предлагаемого гибкого световода для труднодоступных мест – по 10 секунд в области каждого пародонтального кармана, всего 10 процедур на курс лечения.

3. В комплексном лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом необходимо использовать новую фармакологическую композицию на основе глицерогидрогеля кремния с иммуностропными препаратами (рекомбинантным IL-1 β или азоксимера бромидом). Наносить композицию тонким слоем 0,5 мм и вводить по мере возможности в пародонтальные карманы. Использовать 1 раз в день в течение 10 дней. После нанесения исключить употребление пищи в течение 2 часов для улучшения лечебного эффекта.

4. Использовать фармакологическую композицию с рекомбинантным IL-1 β для топического применения в периоде ремиссии, при пародонтите легкой степени тяжести – 1 раз в день в течение 10 дней.

5. В периоде ремиссии средней и тяжелой степени пародонтита необходимо применять композицию с азоксимера бромидом, в стадии обострения после завершения противомикробной терапии, независимо от тяжести процесса, 1 раз в день в течение 10 дней, нанося тонким слоем 0,5 мм на десну и в пародонтальный карман.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЗП	воспалительные заболевания пародонта
ВЗЧЛЮ	воспалительные заболевания челюстно-лицевой области
ИК	индекс кровоточивости
ПИ	пародонтальный индекс
ПК	пародонтальный карман
ПМП	противомикробные пептиды
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РНК	рибонуклеиновая кислота
ХГП	хронический генерализованный пародонтит

Arg, Gln, Trp	аргинин, глутамин, триптофан
CI	confident interval (англ.), доверительный интервал
DEFβ	дефенсин бета
IgA	иммуноглобулин А
IL	интерлейкин;
OR	odds ratio (англ.), отношение шансов – термин математической статистики
PRR	pattern recognition receptors (англ.), паттерн-распознающие рецепторы
SNP	single nucleotide polymorphism (англ.), однонуклеотидный полиморфизм
TLR	toll-like receptors (англ.), толл-подобные рецепторы
TNFα	tumor necrosis factor α (англ.), фактор некроза опухоли α

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рецензированных ВАК:

Статьи:

1. Морфологическая оценка эффективности использования фармакологических композиций на основе кремнийорганического глицерогидрогеля / Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина, Т.Г. Хонина, Л.П. Ларионов, А.С. Симбирцев, Л.И. Дроздова, А.С. Тимченко // Иммунология. 2017. № 2 (38). С.91-96 (РИНЦ - 0,517).
2. Применение терапевтической композиции топического применения, содержащей препараты Ацеграм и Силативит-гель, на модели хронического пародонтита у крыс / Н.А. Овсепян, И.А. Тузанкина, Н.Г. Саркисян, М.А. Долгих, К.В. Соколова // Российский иммунологический журнал. 2017. Т.11 (20), № 3. С.448-449. (PubMed).
3. Проявления первичных иммунодефицитов в полости рта и челюстно-лицевой области / М.А. Долгих, И.А. Тузанкина, Н.Г. Саркисян, Н.А. Овсепян, М.А. Болков // Российский иммунологический журнал. 2017. Т.11 (20), № 2. С.291-294. (PubMed).
4. Ассоциация полиморфных маркеров в генах врожденного иммунитета у больных пародонтитом и воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей / Н.Г. Саркисян, Л.В. Ганковская, И.А. Тузанкина, О.А. Свитич, Г.И. Ронь, В.Н. Шершнева, О.Н. Колядина, М.А. Долгих // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016. № 1. С. 67-71 (ИФ РИНЦ - 0,448).
5. Генетические маркеры пародонтита: обзор литературы / Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина, О.А. Свитич, М.А. Долгих // Пародонтология. 2016. Т.ХХI, № 1 (78). С.3-9 (ИФ РИНЦ - 0,909).
6. Ультрафиолетовое облучение при лечении воспалительных заболеваний пародонта / Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, А.С. Шмыгалев, В.Н. Фасхиев, Ш.К. Исокжонов // Пародонтология. 2016. Т.ХХI, № 4 (81). С.70-72 (ИФ РИНЦ - 0,909).
7. Генетические критерии диагностики пародонтита / Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина, О.А. Свитич, Л.В. Ганковская, М.А. Долгих // Уральский медицинский журнал. 2015. № 8 (131). С.77-81 (ИФ РИНЦ - 0,190).
8. Гистологическая оценка эффективности применения иммуномодулятора в экспериментальном исследовании на модели хронического пародонтита у животных / Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина, Л.И. Дроздова, Л.П. Ларионов, А.С. Тимченко,

О.В. Щипачева // Российский иммунологический журнал. 2015. Т.9 (18), № 2 (1). С. 810-812 (ИФ РИНЦ - 0,354).

9. Способ инфракрасной диагностики воспалительных заболеваний пародонта / *Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, А.А. Мелкумян, Б.П. Жилкин, Е.А. Плесняев* // Пародонтология. 2015. Т. XX, № 4 (77). С.20-24 (ИФ РИНЦ - 0,953).

10. Молекулярно-генетический анализ В-дефектионов при хроническом пародонтите / *Л.В. Ганковская, О.А. Свитич, Н.Г. Саркисян, Е.А. Молчанова, К.В. Русанова, М.А. Долгих* // Российский иммунологический журнал. 2014. Т.8 (17), № 3. С. 279-281 (ИФ РИНЦ - 0,511).

11. Роль вируса простого герпеса и цитомегаловируса в развитии пародонтита / *Н.Г. Саркисян, И.А. Тузанкина, Ю.В. Григорьева, И.А. Мальчиков* // Российский иммунологический журнал. 2014. Т.8 (17), № 2 (1). С. 138-140 (ИФ РИНЦ - 0,511).

12. *Саркисян, Н.Г.* Использование иммуномодуляторов в медикаментозном лечении заболеваний пародонта // Российский иммунологический журнал. 2014. Т.8 (17), № 3. С. 720-722 (ИФ РИНЦ - 0,511).

13. *Саркисян, Н.Г.* Оценка концентрации секреторного и сывороточного иммуноглобулина А при пародонтите / *Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина* // Пародонтология. 2014. Т. XIX, № 2 (71). С. 6-8 (ИФ РИНЦ - 0,787).

14. *Саркисян, Н.Г.* Профилактика сердечно-сосудистой патологии при лечении хронического пародонтита / *Н.Г. Саркисян, А.С. Тимченко* // Уральский медицинский журнал. 2014. № 1 (115). С. 16-18 (ИФ РИНЦ - 0,161).

15. Способ получения модели хронического пародонтита у крыс / *Н.Г. Саркисян, А.С. Тимченко, Л.П. Ларионов, И.А. Тузанкина* // Уральский медицинский журнал. 2014. № 3 (117). С. 54-56 (ИФ РИНЦ - 0,161).

16. *Саркисян, Н.Г.* Оптимизация сбора анамнеза жизни при заболеваниях слизистой полости рта / *Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина* // Уральский медицинский журнал. 2012. № 13 (105). С.28-30 (ИФ РИНЦ - 0,117).

17. Ронь, Г.И. Совершенствование медикаментозного лечения хронического генерализованного пародонтита / *Г.И. Ронь, Н.Г. Саркисян* // Проблемы стоматологии. 2009. № 4. С. 34-36.

18. Синтез биологически активных гелей для лечения и профилактики поражений мягких и костных тканей / *Н.А. Сабирзянов, Т.Г. Хонина, Е.А. Богданова, С.П. Яценко, Л.П. Ларионов, Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь* // Химико-фармацевтический журнал. 2009. Т. 43, № 1. С. 41-43.

Тезисы:

19. *Саркисян, Н.Г.* Использование иммуномодуляторов и разработка новых методов при лечении патологии пародонта / *Н.Г. Саркисян, И.А. Тузанкина* // Аллергология и иммунология. 2016. Т.17, № 4. С.280. XXIII Всемир. конгресс по клин. медицине и иммунореабилитации (Нью-Йорк, США, 18 апр.-1 мая 2016 г.).

20. *Саркисян, Н.Г.* Лечение заболеваний пародонта с использованием беталейкина / *Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина* // Цитокины и воспаление. 2014. Т.13, № 1. С. 119 (ИФ РИНЦ - 0,457).

21. Разработка иммуотропных средств топического применения на гидрофильных кремний- и кремнийтитансодержащих основах в стоматологической практике / *Н.Г. Саркисян, Н.Д. Чернышѐва, Г.И. Ронь, И.Н. Штанько, Т.Г. Хонина, И.А. Тузанкина* // Аллергология и иммунология. 2013. Т.14, № 2. С.152. XVIII междунар. конгресс по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Лондон, Великобритания, 27-30 апр. 2013 г.).

22. *Саркисян, Н.Г.* Факторы наследственности у пациентов с пародонтитом / *Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь* // Российский иммунологический журнал. 2013. Т. 7 (16), № 2-3. С. 178 (ИФ РИНЦ - 0,347).

Патенты:

23. Патент на изобретение № 2612833 РФ. Способ инфракрасной диагностики воспалительных заболеваний пародонта / *Н.Г. Саркисян*, И.А. Тузанкина, Б.П. Жилкин, А.А. Мелкумян, А.В. Михалев, Е.А. Плесняев, М.М. Шевелев // Бюл. 2017. № 8. 5 с.

24. Патент на изобретение № 2612840 РФ. Способ лечения пародонтита / *Н.Г. Саркисян*, Б.П. Жилкин, А.С. Шмыгалев, С.В. Фатьянов, Ш.К. Исокжонов // Бюл. 2017. № 8. 5 с.

25. Патент на изобретение № RU 172 206 U1. Устройство для антибактериальной обработки участков полости рта при лечении заболеваний пародонта и периодонта / А.С. Шмыгалев, В.Н. Фасхиев, Б.П. Жилкин, *Н.Г. Саркисян* // Бюл. 2017. № 19. 7 с.

26. Патент на изобретение № 2545923 РФ. Способ получения модели хронического пародонтита у крыс / *Н.Г. Саркисян*, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина, А.С. Тимченко, Л.П. Ларионов, А.А. Бакуринских; Патентообладатель: Ин-т иммунологии и физиологии УрО РАН // Заявл. 10.02.2014 ; опубли. 10.04.2015. 5 с.

27. Патент на изобретение № 2470640 РФ. Средство для лечения воспалительных заболеваний полости рта и способ лечения воспалительных заболеваний полости рта / О.Н. Чупахин, А.С. Симбирцев, И.А. Тузанкина, Т.Г. Хонина, И.Н. Тосова, Л.П. Ларионов, Г.И. Ронь, *Н.Г. Саркисян*, Н.Д. Чернышова ; патентообладатель Ин-т орган. синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН ; заявл. 15.04.2011 ; опубли. 27.12.2012. // Бюл. 2012. № 36. 16 с.

Монография:

28. Инновационные технологии в диагностике и лечении воспалительных заболеваний пародонта : монография / Г.И. Ронь, Т.М. Еловицова, И.С. Герасимович, Л.М. Герасимович, И.А. Бутюгин, *Н.Г. Саркисян*, И.А. Новикова, С.С. Смирнова, Л.В. Уварова, О.Е. Белова. Екатеринбург: УГМА, 2011. 278 с.

Публикации в других изданиях:

29. Манукян, Л.Ю. Распространенность использования частичных и полных съемных пластиночных протезов среди лиц с пародонтитом /Л.Ю. Манукян, *Н.Г. Саркисян* // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: сб. ст. II Междунар. (72 Всерос.) науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов (Екатеринбург, 12-14 апр. 2017). Екатеринбург, 2017. Т. III. С. 184-187.

30. Мелкумян, А.А. Возможности инфракрасной диагностики пародонтита до появления клинических признаков / А.А. Мелкумян, *Н.Г. Саркисян* // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: сб. ст. II Междунар. (72 Всерос.) науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов (Екатеринбург, 12-14 апр. 2017). Екатеринбург, 2017. Т. III. С. 195-198.

31. Долгих, М.А. Генетические маркеры пародонтита / М.А. Долгих, *Н.Г. Саркисян* // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : сб. ст. 1-й междунар. (71-я Всерос.) науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов. Екатеринбург, 2016. Т. 3. С. 2243-2246.

32. Мелкумян, А.А. Инфракрасная диагностика при пародонтитах / А.А. Мелкумян, *Н.Г. Саркисян* // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : сб. ст. 1-й междунар. (71-я Всерос.) науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов. Екатеринбург, 2016. Т. 3. С. 2364-2367.

33. Скурихина, Я.С. Фиксация и лечение коронно-радикулярных переломов многокорневых зубов / Я.С. Скурихина, И.В. Гармс, *Н.Г. Саркисян* // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : сб. ст. 1-й междунар. (71-я Всерос.) науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов. Екатеринбург, 2016. Т. 3. С. 2501-2505.

34. Тимченко, А.С. Гистологическая оценка регенерации тканей пародонта после воздействия травматического фактора на модели хронического пародонтита у крыс / А.С. Тимченко, *Н.Г. Саркисян* // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : сб. ст. 1-й междунар. (71-я Всерос.) науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов. Екатеринбург, 2016. Т. 3. С. 2517-2520.

35. *Саркисян, Н.Г.* Локальное применение новых иммуотропных средств в пародонтологии // *Фундаментальные и прикладные проблемы стоматологии – 2014* : сб. тр. 1-й выездной университет. науч.-практ. конф. (Санкт-Петербург, 28.06.2014). Санкт-Петербург, 2014. С. 34-35.

36. Новый иммунопрепарат для использования в пародонтологии / *Н.Г. Саркисян, Г.И. Ронь, И.А. Тузанкина, А.С. Симбирцев* // 1-е Всероссийское рабочее совещание по проблемам фундаментальной стоматологии: сб. ст. Екатеринбург, 2013. С. 269-274.

37. The bone destruction treatment with use of new drugs / *N.G. Sarkisyan, G.I. Ron, I.A. Tuzankina, T.G. Khonina* // *International Journal of Rheumatic Diseases supplement 1: Moscow International Forum on Bones and Joints Disorders; Interdisciplinary Approach to Osteoarticular Pathology and Bio-Rheumatology : International School Conference*. Москва, 2016. V.19. P.17.

38. PID. oral and maxillofacial pathology / *I.A. Tuzankina, N.G. Sarkisyan, M.A. Bolkov, E.A. Bass, L.B. Tihomirov* // *International Journal of Rheumatic Diseases: Interdisciplinary Approach to Osteoarticular Pathology and Bio-Rheumatology: Moscow International Forum on Bones and Joints Disorders; International School Conference (18-21 apr.2016)*. М., 2016. Vol.19, suppl. 1. P. 25.

39. Molecular-genetic analysis of defensins in chronic periodontitis / *N. Sarkisyan, I. Tuzankina, M. Dolgikh, L. Solomatina* // *Abstract Book: 4th European Congress of Immunology (Vienna, 6-9.09.2015)*. Vienna, 2015. P.C.17.23.

40. New immunotropic drugs for local treatment of inflammatory periodontal diseases / *N. Sarkisyan, I. Tuzankina, T. Khonina, I. Shtanko* // *Abstract Book: 4th European Congress of Immunology (Vienna, 6-9.09.2015)*. Vienna, 2015. P.C.16.15.

41. Immunotropic drugs for local use in stomatology: abstract / *N.G. Sarkisyan, G.I. Ron', I.N. Shtan'ko, T.G. Khonina, I.A. Tuzankina, A.S. Simbirtsev* // *Front. Immunol. Conference: 15th International Congress of Immunology (ICI)*. doi: 10.3389 : conf.fimmu.2013.02.00237; Milan, Italy, August 22–27, 2013.

САРКИСЯН НАРИНЕ ГРИШАЕВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ
ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА КАК ОСНОВАНИЕ
ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ПАРОДОНТИТА**

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Подписано в печать __.__.2018г. Формат 60x84 1/16. Усл. печ. Л. 2,0.
Тираж 150 экз. Заказ № ____. Отпечатано в типографии