

центра // Труды III Всероссийской научно-практической конференции «Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения». – М.: МГМСУ, 2009. – С. 345–352.

4. Верапатвелян А. Ф., Шульженко В. И., Гуцина С. С., Аюпова Ф. С. Ошибки при ортодонтическом лечении детей с врожденным сквозным несращением губы и неба // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 3. – С. 34–37.

5. Fudalej P., Obloj B., Dudkiewicz Z. and al. Mandibular morphology and spatial position following one-stage simultaneous repair of complete unilateral cleft lip and palate // Cleft palate j. – 2008. – Vol. 45. № 3. – P. 272–277.

6. Khonsari R. H. Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные аспекты комплексного лечения: Сборник. – 2009. – С. 6–17.

Поступила 14.04.2014

Д. А. ДОМЕНЮК¹, А. Г. КАРСЛИЕВА¹, И. М. БЫКОВ², А. С. КОЧКОНЯН²

ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПАРАМЕТРОВ ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЙ И РЕЗИДЕНТНОЙ МИКРОФЛОРЫ В БИОПЛЁНКЕ ДЕСНЕВОЙ БОРОЗДЫ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ЗУБОЧЕЛЮСТНЫМИ АНОМАЛИЯМИ

¹*Кафедра стоматологии общей практики и детской стоматологии*

Ставропольского государственного медицинского университета,

Россия, 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310; тел. 8-918-870-12-05. E-mail: domeniyukda@mail.ru;

²*кафедра фундаментальной и клинической биохимии*

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4

С помощью методики бактериологического исследования с применением техники анаэробного культивирования, а также молекулярно-генетического метода, основанного на полимеразной цепной реакции, выявлены основные пародонтопатогенные виды и проведена количественная оценка содержания пародонтопатогенной, а также резидентной микрофлоры в биоплёнке десневой борозды у детей и подростков в возрасте от 7 до 14 лет с зубочелюстными аномалиями. Выявлено, что адекватным показателем, отражающим интенсивность морфологических и функциональных нарушений при зубочелюстных аномалиях у детей и подростков в наибольшей степени, является увеличение содержания генетических маркеров пародонтопатогенов в десневой жидкости *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и *Bacteroides forsythus*.

Ключевые слова: молекулярно-генетический метод, полимеразно-цепная реакция, анаэробное культивирование, зубочелюстные аномалии, пародонтопатогенная микрофлора.

D. A. DOMENYUK¹, A. G. KARSLIEVA¹, I. M. BYKOV², A. S. KOCHKONYAN²

EVALUATION OF QUANTITATIVE PARAMETERS OF PARODONTOPATHOGENIC AND RESIDENTIAL MICROFLORA IN GINGIVAL SULCUS BIOFILM IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH DENTOALVEOLAR ANOMALIES

¹*The department of general practice dentistry and pediatric dentistry
of the Stavropol state medical university,*

Russia, 355017, Stavropol, Mira street, 310; tel. 8-918-870-12-05. E-mail: domeniyukda@mail.ru;

²*the department of fundamental and clinical biochemistry state budget institution*

*of higher education «Kuban state medical university» of the Ministry of health of the Russian Federation,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedin str., 4*

The method of bacteriologic investigation employing the anaerobic cultivation technique, as well as the molecular-genetic method based on polymerase chain reaction, were used to detect the major parodontopathogenic species and to conduct quantitative evaluation of parodontopathogenic and residential microflora in gingival sulcus biofilm in children and adolescents (aged 7–14) with dentoalveolar anomalies. It has been shown that a proper indicator best reflecting the intensity of morphological and functional disturbances in case of dentoalveolar anomalies in children and adolescents,

is an increase of parodontopathogene genetic markers in gingival fluid (*Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, and *Bacteroides forsythus*).

Key words: molecular-genetic method; polymerase chain reaction; anaerobic cultivation; dentoalveolar anomalies; parodontopathogenic microflora.

По данным ВОЗ (2009), распространённость зубочелюстных аномалий (ЗЧА) в структуре стоматологической заболеваемости у детей и подростков находится на третьем месте после кариеса и патологии пародонта, имея тенденцию к дальнейшему устойчивому росту [21].

Системный анализ изучения стоматологической заболеваемости детского населения по данным обращаемости и планово-профилактической санации показывает, что частота встречаемости аномалий зубочелюстной системы у детей 6–9 лет в различных регионах РФ составляет от 29,4% до 41,1%, а у подростков 12–17 лет – от 11,4% до 71,4% от общего числа обследуемых. У детей и подростков, имеющих другие стоматологические заболевания, частота ЗЧА повышается в среднем до 58,9%, а наличие общесоматической патологии увеличивает частоту возникновения аномалий до 88,6% [19].

Согласно современным научным представлениям ЗЧА представляют собой патологические состояния, включающие наследственные нарушения развития зубочелюстной системы и приобретенные аномалии зубов, челюстных костей и окклюзии зубных рядов. ЗЧА относятся к многофакторным заболеваниям, возникающим в результате сложного взаимодействия наследственных и экзогенных факторов, о чём свидетельствуют исследования на близнецовой модели ведущих отечественных учёных и исследователей [5, 7, 27]. Высокая нуждаемость в специализированной ортодонтической помощи, значительная распространённость, наличие морфологических, эстетических, фонетических, функциональных нарушений, зачастую сочетающихся с внутренней патологией при существенной вероятности развития местных и системных осложнений, определили медико-социальную значимость данной аномалии [1, 8, 30].

В современной зарубежной и отечественной научной литературе отсутствует единое мнение, а также не представлены убедительные доказательства существования прямой корреляционной зависимости между наличием ЗЧА и распространённостью, интенсивностью заболеваний пародонта у детей и подростков. По мнению одних авторов, возникающие при ЗЧА окклюзионные нарушения обеспечивают неравномерное распределение жевательной нагрузки на отдельные участки зубного ряда, инициируя развитие метаболических, функциональных, структурных

изменений в тканях пародонта. В этих случаях развитие воспалительных процессов связано с нарушением нормального функционирования тканей пародонта, которое заключается в перегрузке одних участков зубных рядов и функциональной недогрузке других [2, 9].

Другие авторы аргументированно утверждают, что опубликованные данные об увеличении распространенности, интенсивности поражений тканей пародонта, возникающих под влиянием функциональной перегрузки зубов, следует воспринимать критически. По их мнению, окклюзионная травма, аномалия прикуса и архитектоники преддверия полости рта моделируют течение пародонтита, не являясь непосредственной причиной его возникновения. Рассмотренная в эксперименте вероятность влияния состояния окклюзии и зубного налета на патологию пародонта не установила увеличения потери эпителиального прикрепления при повышении количества дентального налета у детей и подростков с ЗЧА [26, 28]. Клинические исследования, направленные на установление взаимосвязи между гигиеническим, пародонтальным статусом у детей и подростков с ЗЧА, не выявили прямой корреляционной зависимости между распространённостью, интенсивностью заболеваний пародонта и наличием аномалий зубочелюстной системы, но обосновали существование связи между низким уровнем гигиены, наличием поддесневого зубного камня и воспалением краевого пародонта [23, 25, 29]. Бесспорным утверждением является то, что ведущая роль в развитии воспалительных заболеваний пародонта принадлежит мягкому бактериальному налету, располагающемуся на минерализованной поверхности зубного камня, аккумулирующего эндотоксины и являющегося основанием для продолжения собственного роста. К видимым изменениям тяжести течения этого процесса могут приводить эндогенные (низкое содержание антител, генетическая предрасположенность к увеличенной продукции цитокинов, депрессия нейтрофилов и т. д.) или экзогенные причины. Достоверно установлено, что у всех детей с ЗЧА наблюдаются воспалительные явления в пародонте в виде катарального и гипертрофического гингивита, а также пародонтита. При этом происходит прогрессирующее ослабление как активных, так и пассивных методов модуляции кровотока, в результате чего снижается уровень перфузии ткани, достоверно повышается тони-

ческое напряжение микрососудов и ухудшается венозный отток, что свидетельствует о развитии значительных и глубоких изменений микроциркуляции при патологии прикуса [6, 11, 12].

На современном этапе развития сформировались новые предпосылки для переоценки роли лабораторно-диагностических исследований в общей системе клинических дисциплин, что обусловлено требованиями, выдвигающимися в связи со стремительным развитием современных подходов и принципов доказательной и персонализированной медицины, более детальным пониманием характера междисциплинарных отношений. Решение указанных задач становится возможным на базе развития молекулярно-генетических, нано- и информационных технологий, которые способны решать проблемы, связанные с диагностикой распространённых инфекционных и мультифакторных заболеваний [18, 20, 24]. Применение молекулярно-генетических технологий позволяет выявлять и идентифицировать патогенные микроорганизмы с использованием методов молекулярной гибридизации, полимеразной цепной реакции (ПЦР), рестрикционного анализа хромосомной и плазмидной ДНК. По мнению ведущих отечественных и зарубежных исследователей, наиболее эффективным является метод ПЦР. Принцип метода заключается в удвоении (амплификации) специфического фрагмента ДНК (РНК) микроорганизма-возбудителя, ограниченного праймерами, при помощи фермента ДНК-, РНК-полимеразы. За каждый следующий цикл амплификации происходит удвоение как исходного участка ДНК (РНК), так и вновь синтезированных фрагментов (амплификатов). В результате этого число фрагментов растёт в геометрической прогрессии (цепная реакция), и после 30–40 циклов их число превышает несколько миллиардов, что позволяет сделать заключение о вероятности наличия микроорганизма-возбудителя в исследуемом материале [13, 14, 22].

Полученный и систематизированный за последние годы материал доказывает ведущую роль в формировании воспалительного процесса в полости рта резидентной облигатной анаэробной и микроаэрофильной микрофлоры. Из более 700 видов выделенного с помощью современных технологий генетического материала микроорганизмов, заселяющих полость рта, в качестве этиологически значимых при патологии пародонта доказана роль только небольшого числа бактерий [3, 15, 16].

В научной литературе представлены убедительные доказательства того, что происходящие при ЗЧА морфофункциональные сдвиги сопровождаются не только нарушением гомеостатического равновесия, что является важным патогенетическим механизмом, но и изменением

микробиоценоза с увеличением числа грамотрицательной анаэробной микрофлоры. Применение обычных методов диагностики в большинстве случаев не позволяет своевременно идентифицировать возбудителей с целью профилактики осложнений воспалительного характера, ассоциированных со специфической пародонтопатогенной микрофлорой [4, 10, 17].

В этой связи представляется целесообразным изучение корреляционных связей между степенью выраженности морфологических изменений и количественными параметрами важнейших видов пародонтопатогенной и резидентной микрофлоры с помощью микробиологического и молекулярно-генетического методов детекции возбудителей у детей и подростков с аномалиями зубочелюстной системы. Результаты корреляционного анализа как интегрального показателя нарушений микробиоценоза позволят не только объективно оценить стоматологический статус, а также предрасположенность к инфекционным заболеваниям тканей пародонта, но и обосновать целесообразность планирования соответствующих потребностям пациента индивидуальных, а также экономически эффективных лечебно-профилактических мероприятий.

Цель исследования – выявление основных пародонтопатогенных видов и количественная оценка содержания пародонтопатогенной, а также резидентной микрофлоры в биоплёнке десневой борозды у детей и подростков при зубочелюстных аномалиях с различной интенсивностью морфофункциональных нарушений.

Материалы и методы исследования

Материалом лабораторно-диагностических исследований служили результаты обследования 108 пациентов в возрасте от 7 до 14 лет, обратившихся на кафедру стоматологии общей практики и детской стоматологии СтГМУ, имеющих компенсированную, субкомпенсированную формы кариеса и гингивит лёгкой степени тяжести (средний показатель индекса РМА – $12 \pm 0,9\%$), из которых были сформированы контрольная и три группы наблюдений. Контрольную группу составили 24 пациента, находящихся на диспансерном наблюдении, без ЗЧА. В 1-ю группу вошли 29 пациентов с ЗЧА I класса по Энгля; во 2-ю группу включено 28 пациентов с ЗЧА II класса, 1-го и 2-го подклассов по Энгля; в 3-ю группу включено 27 пациентов с ЗЧА III класса по Энгля – Катцу. Диагноз был поставлен на основании классификации Энгля, дополненной классификацией Д. А. Калвелеса (1957) и классификацией аномалий зубов и челюстей кафедры ортодонтии и детского протезирования МГМСУ им. А. И. Евдокимова (2006). Все пациенты с ЗЧА проходили клиническое обследование, включавшее сбор

анамнеза и осмотр. У всех детей и подростков были проведены антропометрические исследования лица и головы, а также анализ контрольно-диагностических моделей челюстей. Изучали взаимоотношение размеров зубов, ширину зубных рядов по Pont, сагиттальные изменения по методу Korkhaus, соотношение сегментов зубных дуг по Gerlach, оценивали форму зубных рядов, их соотношение, а также положение отдельных зубов в сагиттальной, трансверсальной и вертикальной плоскостях. В качестве дополнительных методов исследования использовалось рентгенологическое исследование (ортопантомография, телерентгенография, внутриротовая контактная рентгенография). Анализ боковых телерентгенограмм головы проводили по методу Шварца. Все обследуемые были обучены стандартным методам чистки зубов, адаптированным к их возрасту. Контроль гигиенического состояния полости рта проводился с помощью гигиенического индекса (J. C. Green, J. K. Vermillion, 1964), рекомендуемого ВОЗ (1971) в перечне основных клинических методов стоматологических исследований.

Методика забора материала

Забор материала для микробиологического исследования проводили до процедуры чистки зубов, утром натощак. Место взятия пробы (в области с наиболее выраженными признаками воспаления десны) обрабатывали стерильными ватными тампонами. Экссудат зубодесневой борозды собирали путём введения стерильного бумажного эндодонтического штифта (№ 30) в десневой желобок таким образом, чтобы исключить контакт со слизистой оболочкой и поверхностью эмали зуба.

Методика бактериологического исследования с применением техники анаэробного культивирования. Полученный материал помещён в полужидкую питательную среду Стюарта, затем в течение одного часа транспортирован в лабораторию питательных сред для культивирования микроорганизмов I–IV групп патогенности ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. После этого проведён количественный секторальный посев на среды, предназначенные для культивирования бактерий полости рта. В анаэробных условиях чистые культуры факультативно- и облигатно-анаэробных бактерий получены с использованием 5%-ного кровяного гемин-агара, приготовленного на основе Brain-Heart Infusion фирмы «Difco» с добавлением гема (5 мкг/мл) и менадиона (0,1 мкг/мл), с обязательным помещением посевов в анаэроостаты с бескислородной газовой смесью (состав: 80%

азота, 10% углекислого газа, 10% водорода). Для редукции остатков кислорода применён палладиевый катализатор. Время культивирования в анаэробных условиях составляло до 7 суток. Результаты количественного исследования микрофлоры рассчитывались в колониеобразующих единицах – КОЕ/мл (CFU) и lg CFU.

Молекулярно-генетический метод, основанный на ПЦР, с последующей обратной ДНК-гибридизацией с праймерами пародонтопатогенных бактерий. Полученный вышеописанным методом материал из зубодесневой борозды помещён в пробирки Eppendorf и в течение одного часа транспортирован в лабораторию питательных сред для культивирования микроорганизмов I–IV групп патогенности ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. ПЦР была проведена с использованием тест-набора «МультиДент» (ООО НПФ «ГенЛаб», РФ). Тест-набор «МультиДент» является высокоспецифичным молекулярно-биологическим диагностическим способом идентификации пяти маркерных пародонтопатогенов: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia*. Для проведения теста не требуется поддержания бактерий живыми, а также специальных предосторожностей при транспортировке, так как метод основан на анализе нуклеиновых кислот. Концентрации бактерий, присутствующих на здоровой слизистой оболочке, дают отрицательный результат теста, а любой положительный результат обладает диагностическим признаком.

Для выделения ДНК из полученного материала использован метод ускоренной пробоподготовки с помощью набора реагентов производства ООО НПФ «ГенЛаб» (РФ) в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя: «Экстраген» (суспензия смеси гранул ионообменников – 10 мл); «Энзимикс» (протеолитический комплекс – 1 пробирка с лиофилизированным содержимым); растворитель «Энзимикс» – 100 мкл. Амплификацию выделенного генетического материала проводили в термоциклере «Терцик МС- 2» («ДНК-Технология», г. Москва) с компьютерной программой для осуществления мультиплексной ПЦР, рекомендованной фирмой-изготовителем. Клонированные образцы ДНК анализировали с помощью электрофореза в 1,6%-ном агарозе после окрашивания бромистым этидием (медицинская технология ФС-2006/043-У).

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием программ «Microsoft Excel XP», «Statistica 6.0»

и включала описательную статистику, оценку достоверности различий по Стьюденту и корреляционный анализ с оценкой достоверности коэффициентов корреляции. При оценке достоверности отличий использовалось значение $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведённых лабораторно-диагностических исследований установлено, что у пациентов контрольной группы частота выявления носительства пародонтопатогенных видов составила 37,5%, при этом у 62,5% лиц не было выявлено ни одного вида пародонтопатогенной микрофлоры (рис. 1А). У 2 пациентов (8,3%) наблюдалась моноинфекция *P. gingivalis*; у 4 пациентов (16,7%) определяли ассоциации двух видов микроорганизмов (*P. intermedia* + *B. forsythus*;

A. actinomycetemcomitans + *P. gingivalis*; *T. denticola* + *B. forsythus*); у 3 пациентов (12,5%) выявлено сочетанное носительство представителей трёх видов (*P. intermedia* + *B. forsythus* + *P. gingivalis*; *A. actinomycetemcomitans* + *P. gingivalis* + *T. denticola*; *P. intermedia* + *B. forsythus* + *T. denticola*). При анализе структуры маркеров, выделенных из проб у пациентов контрольной группы, установлено, что наиболее часто (24,8%) были выявлены маркеры *P. gingivalis*, в 21,3% случаев – *B. forsythus*, в 13,8% случаев – *A. actinomycetemcomitans*, в 13,3% случаев – *P. intermedia*, в 7,1% случаев – *T. denticola* (рис. 1Б).

Анализ лабораторно-диагностических исследований позволяет утверждать, что у пациентов 1-й группы частота выявления носительства пародонтопатогенных видов составила 37,8%, при этом у 62,2% лиц не было выявлено

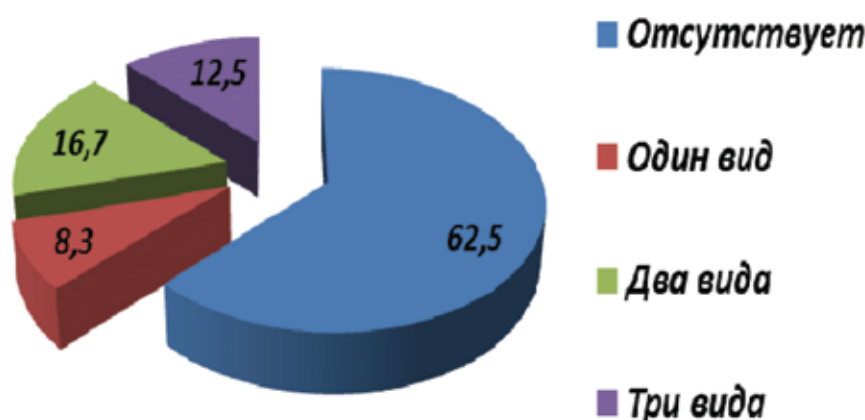


Рис. 1А. Количество пародонтопатогенов в биопленке ЗДБ у пациентов контрольной группы

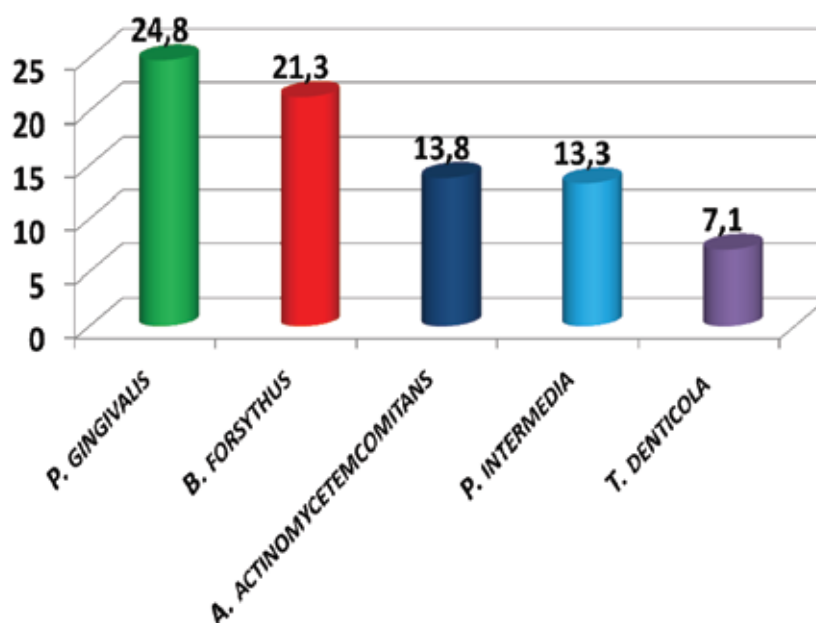


Рис. 1Б. Частота выявления пародонтопатогенов в биопленке ЗДБ у пациентов контрольной группы

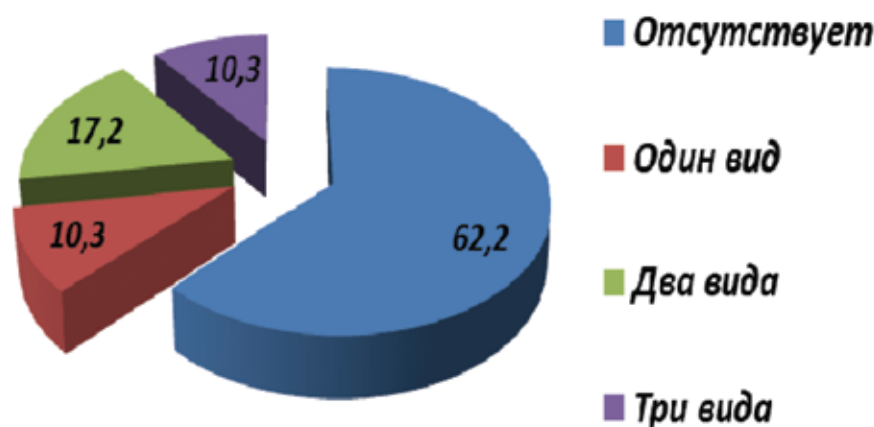


Рис. 2А. Количество пародонтопатогенов в биопленке ЗДБ у пациентов первой группы

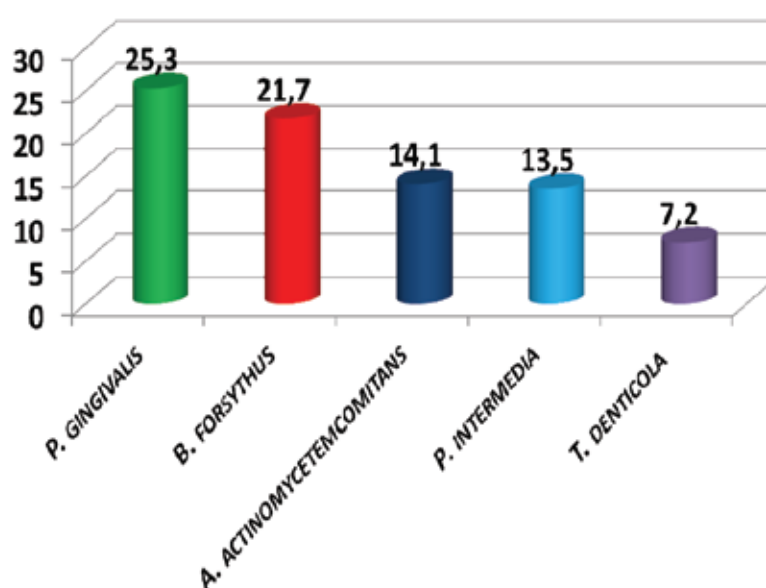


Рис. 2Б. Частота выявления пародонтопатогенов в биопленке ЗДБ у пациентов первой группы

ни одного вида пародонтопатогенной микрофлоры (рис. 2А). У трёх пациентов (10,3%) наблюдалась моноинфекция *P. gingivalis*; у пяти пациентов (17,2%) определяли ассоциации двух видов микроорганизмов (*P. intermedia* + *B. forsythus*; *A. actinomycetemcomitans* + *P. gingivalis*; *T. denticola* + *B. forsythus*); у трёх пациентов (10,3%) выявлено сочетанное носительство представителей трёх видов (*A. actinomycetemcomitans* + *P. gingivalis* + *T. denticola*; *P. intermedia* + *B. forsythus* + *P. gingivalis*; *P. intermedia* + *B. forsythus* + *T. denticola*). При анализе структуры маркеров, выделенных из проб у пациентов 1-й группы, установлено, что наиболее часто (25,3%) были выявлены маркеры *P. gingivalis*, в 21,7% случаев – *B. forsythus*, в 14,1% случаев – *A. actinomycetemcomitans*, в 13,5% случаев – *P. intermedia*, в 7,2% случаев – *T. denticola* (рис. 2Б).

Результат проведённых лабораторно-диагностических исследований позволяет установить, что у пациентов 2-й группы частота выявления носительства пародонтопатогенных видов составила 46,4%, при этом у 53,6% лиц не было выявлено ни одного вида пародонтопатогенной микрофлоры (рис. 3А). У 4 пациентов (14,3%) наблюдалась моноинфекция *P. gingivalis*; у 6 пациентов (21,4%) определяли ассоциации двух видов микроорганизмов (*P. intermedia* + *B. forsythus*; *A. actinomycetemcomitans* + *P. gingivalis*; *T. denticola* + *B. forsythus*); у 3 пациентов (10,7%) выявлено сочетанное носительство представителей трёх видов (*P. intermedia* + *B. forsythus* + *P. gingivalis*; *A. actinomycetemcomitans* + *P. gingivalis* + *T. denticola*; *P. intermedia* + *B. forsythus* + *T. denticola*). При анализе структуры маркеров, выделенных из проб у пациентов 2-й группы, установлено, что наиболее часто

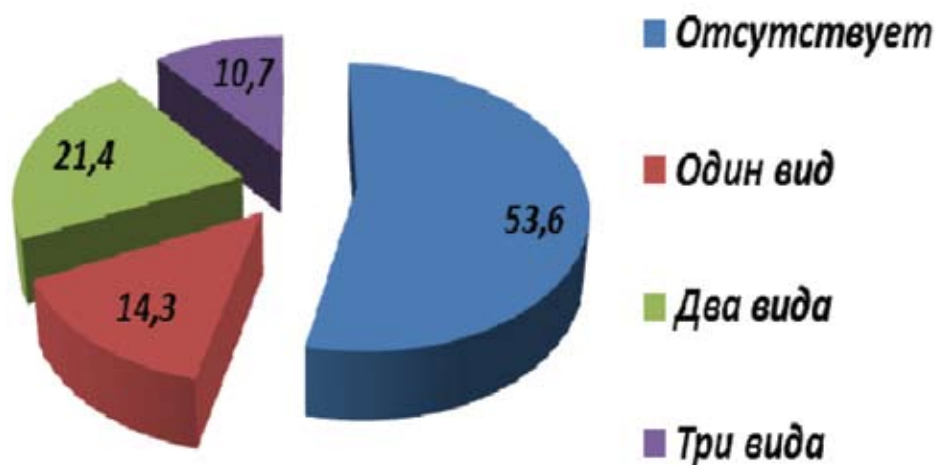


Рис. 3А. Количество пародонтопатогенов в биопленке ЗДБ у пациентов второй группы

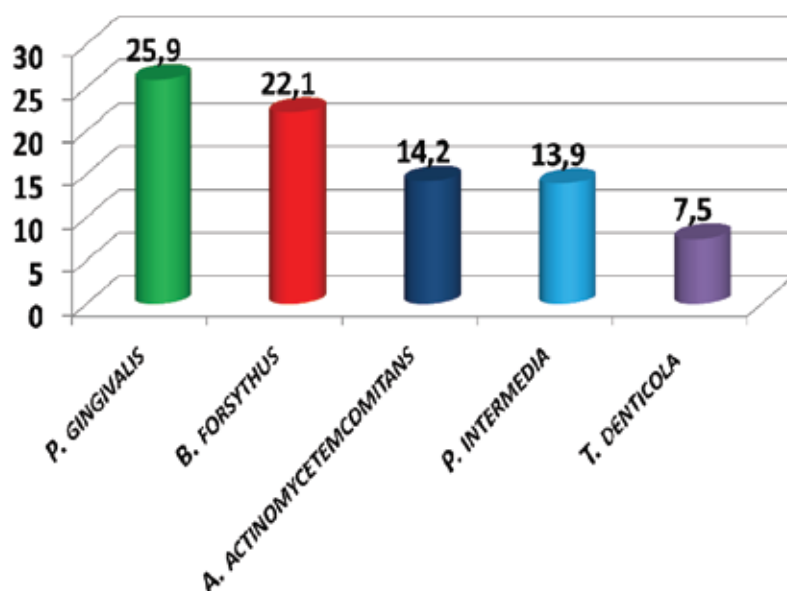


Рис. 3Б. Частота выявления пародонтопатогенов в биопленке ЗДБ у пациентов второй группы

(25,9%) были выявлены маркеры *P. gingivalis*, в 22,1% случаев – *B. forsythus*, в 14,2% случаев – *A. actinomycetemcomitans*, в 13,9% случаев – *P. intermedia*, в 7,5% случаев – *T. denticola* (рис. 3Б).

Анализ лабораторно-диагностических исследований позволяет утверждать, что у пациентов 3-й группы частота выявления носительства пародонтопатогенных видов составила 48,1%, при этом у 51,9% лиц не было выявлено ни одного вида пародонтопатогенной микрофлоры (рис. 4А). У четырех пациентов (14,8%) наблюдалась моноинфекция *P. gingivalis*; у семи пациентов (25,9%) определяли ассоциации двух видов микроорганизмов (*P. intermedia* + *B. forsythus*; *A. actinomycetemcomitans* + *P. gingivalis*; *T. denticola* + *B. forsythus*); у двух пациентов (7,4%) выявлено сочетанное носительство представителей трёх видов (*P. intermedia* + *B. forsythus* + *P. gingivalis*;

A. actinomycetemcomitans + *P. gingivalis* + *T. denticola*; *P. intermedia* + *B. forsythus* + *T. denticola*). При анализе структуры маркеров, выделенных из проб у пациентов 3-й группы, установлено, что наиболее часто (27,1%) были выявлены маркеры *P. gingivalis*, в 22,7% случаев – *B. forsythus*, в 14,9% случаев – *A. actinomycetemcomitans*, в 14,6% случаев – *P. intermedia*, в 7,8% случаев – *T. denticola* (рис. 4Б).

Количество пародонтопатогенных и резидентных бактерий в биоплёнке ЗДБ пациентов исследуемых групп представлено в таблице 1.

Относительная частота выявления пародонтопатогенных и резидентных бактерий в биоплёнке ЗДБ пациентов исследуемых групп представлена в таблице 2.

Систематизируя данные микробиологических и лабораторно-диагностических исследований,

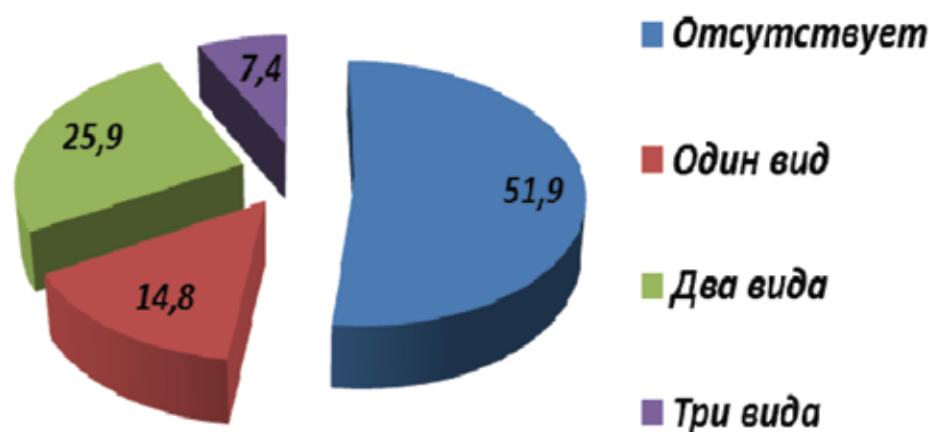


Рис. 4А. Количество пародонтопатогенов в биопленке ЗДБ у пациентов третьей группы

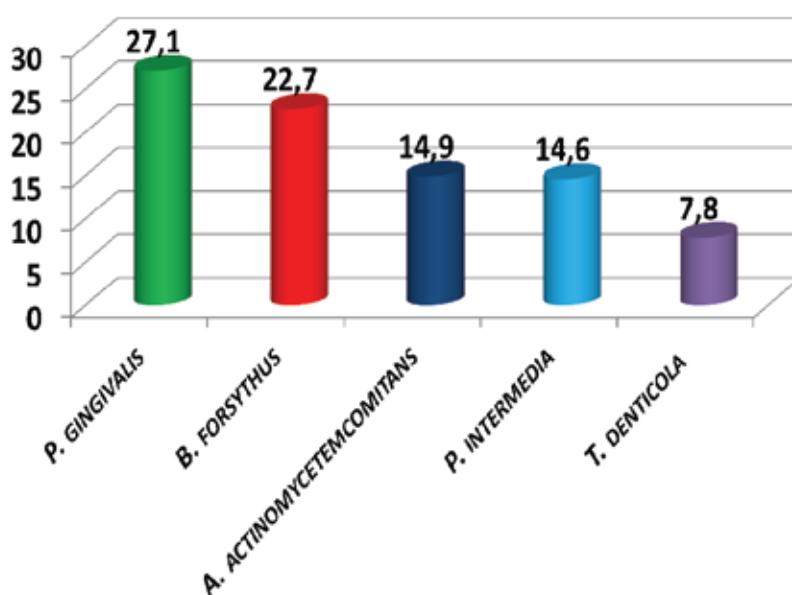


Рис. 4Б. Частота выявления пародонтопатогенов в биопленке ЗДБ у пациентов третьей группы

подтвердили пороговые диагностические показатели ПЦР для микрофлоры биопленки ЗДБ:

- диагностически значимый уровень ПЦР для большинства пародонтопатогенных видов – 5,0 lg CFU;

- диагностически значимый уровень ПЦР для *A. actinomycetemcomitans* – 4,0 lg CFU.

У пациентов контрольной группы количество анаэробных пародонтопатогенных бактерий в биопленке ЗДБ находится в пределах референтных значений нормы, не превышая пороговых диагностических показателей. Среди анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры в биопленке ЗДБ наименьшее количество составляет *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ($3,32 \pm 0,14$ lg CFU); наибольшее – *Porphyromonas gingivalis* ($4,08 \pm 0,21$ lg CFU) и *Prevotella intermedia* ($4,27 \pm 0,21$ lg CFU). Резидентная микрофлора биопленки ЗДБ у пациентов контрольной группы представ-

лена грамположительными микроаэрофильными и анаэробными стрептококками, энтерококками, коринебактериями в умеренном количестве.

У пациентов 1-й группы число анаэробных пародонтопатогенных бактерий в биопленке ЗДБ не превышает пороговых диагностических показателей, но по сравнению с количественными параметрами пациентов контрольной группы увеличено в 1,01–1,07 раза. Наименьшее количество среди анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры в биопленке ЗДБ составляет *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ($3,56 \pm 0,16$ lg CFU); наибольшее – *Porphyromonas gingivalis* ($4,19 \pm 0,20$ lg CFU) и *Prevotella intermedia* ($4,34 \pm 0,21$ lg CFU). В отношении резидентной микрофлоры биопленки ЗДБ отмечается разнонаправленная динамика: по отношению к количественным показателям пациентов контрольной группы минимальный прирост *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus*

Таблица 1

**Количество пародонтопатогенных и резидентных бактерий в биопленке
зубодесневой борозды пациентов исследуемых групп, Ig CFU (M±m)**

Род, вид бактерий	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Пародонтопатогенная микрофлора				
Actinobacillus actinomycetemcomitans	3,32±0,14	3,56±0,16*	3,81±0,19*	4,13±0,21*
Bacteroides forsythus	3,72±0,17	3,94±0,19*	4,68±0,23*	5,06±0,24*
Treponema denticola	3,43±0,15	3,65±0,16*	3,74±0,18*	3,89±0,19*
Porphyromonas gingivalis	4,08±0,21	4,19±0,20*	4,51±0,22*	5,16±0,25*
Prevotella intermedia	4,27±0,21	4,34±0,21*	4,46±0,23*	5,12±0,24*
Резидентная микрофлора				
Streptococcus sanguis	5,41±0,26	5,67±0,29*	5,84±0,31*	6,26±0,33*
Streptococcus salivarius	3,94±0,19	4,08±0,21*	4,43±0,23*	5,19±0,26*
Enterococcus spp.	5,83±0,31	5,81±0,29*	5,64±0,28*	5,33±0,25*
Peptostreptococcus anaerobius	6,07±0,32	4,21±0,21*	2,74±0,13*	1,08±0,04*
Corynebacterium spp.	4,36±0,19	4,21±0,18*	4,28±0,18*	4,23±0,18*
Veillonella parvula	4,68±0,22	3,93±0,19*	2,07±0,11*	0,84±0,04*

Примечание: * – $p < 0,05$ статистически достоверно по сравнению с показателями пациентов контрольной группы (критерий Ньюмена-Кейлса, критерий Данна).

Таблица 2

**Относительная частота выявления пародонтопатогенных
и резидентных бактерий в биопленке зубодесневой борозды
пациентов исследуемых групп, % (M±m)**

Род, вид бактерий	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Пародонтопатогенная микрофлора				
Actinobacillus actinomycetemcomitans	3,8±0,18	7,4±0,32*	14,6±0,71*	21,5±1,03*
Bacteroides forsythus	2,7±0,14	5,9±0,28*	9,6±0,47*	18,1±0,84*
Treponema denticola	6,3±0,33	9,7±0,44*	12,8±0,63*	16,6±0,78*
Porphyromonas gingivalis	0	6,3±0,27*	19,1±0,91*	33,7±1,56*
Prevotella intermedia	2,9±0,15	5,1±0,23*	7,0±0,33*	11,2±0,53*
Резидентная микрофлора				
Streptococcus sanguis	32,8±1,51	40,6±1,88*	51,4±2,33*	58,7±2,87*
Streptococcus salivarius	15,3±0,70	15,8±0,67*	13,8±0,64*	12,9±0,56*
Enterococcus spp.	14,7±0,67	15,6±0,73*	17,4±0,76*	16,2±0,74*
Peptostreptococcus anaerobius	23,1±1,08	18,3±0,87*	12,4±0,57*	3,6±0,16*
Corynebacterium spp.	11,7±0,51	13,2±0,58*	12,9±0,56*	13,3±0,57*
Veillonella parvula	19,5±0,92	16,4±0,80*	9,8±0,46*	4,1±0,19*

Примечание: * – $p < 0,05$ статистически достоверно по сравнению с показателями пациентов контрольной группы (критерий Ньюмена-Кейлса, критерий Данна).

sanguis (1,03–1,04 раза) сочетается с выраженным снижением *Peptostreptococcus anaerobius* (1,44 раза) и *Veillonella parvula* (1,19 раза).

У пациентов 2-й группы число анаэробных пародонтопатогенных микроорганизмов *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ($3,81 \pm 0,19$ lg CFU) и *Bacteroides forsythus* ($4,68 \pm 0,23$ lg CFU) в биопленке ЗДБ приближается к пороговым диагностическим показателям, а по сравнению с количественными параметрами пациентов контрольной группы увеличено в 1,04–1,25 раза. Наименьшее количество среди анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры в биопленке ЗДБ составляют *Treponema denticola* ($3,74 \pm 0,18$ lg CFU) и *Prevotella intermedia* ($4,46 \pm 0,23$ lg CFU). Со стороны резидентной микрофлоры биопленки ЗДБ отмечается более существенный разрыв значений: по отношению к количественным показателям пациентов контрольной группы умеренный прирост *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis* (1,07–1,12 раза) сочетается со значительным сокращением численности *Peptostreptococcus anaerobius* (2,21 раза) и *Veillonella parvula* (2,26 раза).

У пациентов 3-й группы в биопленке ЗДБ количество анаэробных пародонтопатогенных бактерий *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ($4,13 \pm 0,21$ lg CFU), *Bacteroides forsythus* ($5,06 \pm 0,24$ lg CFU), *Porphyromonas gingivalis* ($5,16 \pm 0,25$ lg CFU) и *Prevotella intermedia* ($5,12 \pm 0,24$ lg CFU) превышает пороговые диагностические показатели, а по сравнению с численностью у пациентов контрольной группы увеличено в 1,04–1,25 раза. Наименьшее число среди анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры в биопленке ЗДБ составляет *Treponema denticola* ($3,89 \pm 0,19$ lg CFU). В отношении резидентной микрофлоры биопленки ЗДБ отмечается наиболее выраженный разрыв величин: по отношению к количественным параметрам пациентов контрольной группы существенный прирост *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis* (1,15–1,31 раза) совмещается с наиболее значимым уменьшением численности *Peptostreptococcus anaerobius* (5,62 раза) и *Veillonella parvula* (5,57 раза).

Системный анализ результатов микробиологических исследований позволяет утверждать, что в биопленке ЗДБ у детей и подростков с зубочелюстными аномалиями определяется наличие генетических маркеров пародонтопатогенной микрофлоры. Анализ структуры выделенных из проб генетических маркеров пародонтопатогенов показал следующую частоту их выявления: *Porphyromonas gingivalis* – 24,8–27,1%; *Bacteroides forsythus* – 21,3–22,7%; *Actinobacillus actinomycetemcomitans* – 13,8–14,9%; *Prevotella intermedia* – 13,3–14,6%; *Treponema denticola* – 7,1–7,8%. При обработке

методом вариационной статистики по критерию χ^2 полученные данные с 95%-ной вероятностью ($z=1,6$; $p=0,01$) позволяют утверждать, что увеличение тяжести течения и выраженности морфофункциональных нарушений при зубочелюстных аномалиях II класса по Энглю и III класса по Энглю – Катцу коррелирует с увеличением числа лиц, у которых диагностированы ДНК наиболее вирулентных и типичных для развития инфекционных процессов в тканях пародонта видов микробов (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*). Это свидетельствует о статистически значимой тенденции к увеличению выделения анаэробных пародонтопатогенных бактерий, что достоверно отличается от результатов, полученных у пациентов контрольной и 1-й групп наблюдений.

По нашему мнению, это связано с тем, что при скученности и аномальном положении зубов ухудшается гигиеническое состояние полости рта в связи с наличием поднутрений, расширением поверхности для микробной колонизации, а также возрастанием количества микрофлоры и продуктов её жизнедеятельности. Исследуемые патологии относятся к сагиттальным аномалиям прикуса и связаны с дистальным положением нижней челюсти относительно верхней, что определяет нарушения окклюзионных контактов и изменение ротового пищеварения. Можно предположить, что выраженные нарушения окклюзионных соотношений инициируют развитие метаболических, морфологических, а также функциональных изменений в зубочелюстной системе, утяжеляя течение существующих воспалительных процессов.

Таким образом, применение молекулярно-генетических технологий в лабораторной диагностике, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью, позволяет достоверно, объективно установить и идентифицировать патогенную микрофлору для предупреждения прогрессирования инфекционных заболеваний тканей пародонта.

Наличие зубочелюстных аномалий практически всегда сопровождается изменением микробиологического статуса, причём увеличение общей микробной массы приводит к усилению патогенной активности микрофлоры.

Существенное превышение пороговых диагностических показателей анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры при наличии генетических маркеров пародонтопатогенов в десневой жидкости у детей с зубочелюстными аномалиями является информативным, диагностически значимым тестом в определении степени морфологических изменений челюстно-лицевой области, адекватно отображая выраженность патологических процессов.

Наличие аномалий зубочелюстной системы приводит к нарастанию иммунных реакций в ре-

зультате усиления антигенной нагрузки на иммунокомпетентные ткани ротовой полости. Это связано со структурно-функциональной перестройкой челюстно-лицевой области, окклюзионными нарушениями, изменением ротового пищеварения, ухудшением гигиенического состояния полости рта в связи с расширением поверхности для микробной колонизации, а также замещением резидентной микрофлоры пародонтопатогенной. Целесообразность данного состояния заключается в элиминации антигенов, которые являются потенциально патогенными факторами, провоцирующими возникновение воспалительных или аллергических процессов в челюстно-лицевой области.

Адекватным показателем, отражающим интенсивность морфологических и функциональных нарушений при зубочелюстных аномалиях у детей и подростков, является увеличение частоты выявления генетических маркеров наиболее вирулентных пародонтопатогенов (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*) в десневой жидкости.

На этапе диагностики зубочелюстных аномалий у детей и подростков при определении степени тяжести морфофункциональных нарушений обоснована целесообразность проведения иммунокорректирующей терапии для восстановления специфических и неспецифических факторов гуморального иммунитета с целью повышения антимикробной защиты полости рта.

Высокая чувствительность, оперативность и относительная простота молекулярно-генетических методов исследований сделали их успешными в решении таких задач микробиологической диагностики, как прямое обнаружение и идентификация возбудителей инфекционных заболеваний. Результаты лабораторно-клинических исследований свидетельствуют о перспективности применения ПЦР в качестве рутинного диагностического теста, а также повышения значимости молекулярно-генетических методов исследований в клинической практике врача-стоматолога в рамках расширения новых неинвазивных, доступных и безопасных экспресс-методов, направленных на повышение эффективности стоматологической помощи детскому населению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аболмасов Н. Г. Ортодонтия / Н. Г. Аболмасов, Н. Н. Аболмасов. – М.: «МЕДпресс-информ», 2008. – 433 с.
2. Аникиенко А. А. Аппаратурное ортодонтическое лечение и его подчинение физиологическим законам раздражения / А. А. Аникиенко, Н. В. Панкратова, Л. С. Персин. – М.: МИА, 2010. – 112 с.
3. Боровский Е. В. Биология полости рта / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев. – М.: МИА, 2011. – 312 с.
4. Воробьев А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / А. А. Воробьев, А. С. Быков, М. Н. Бойченко. – М.: Медицина, 2008. – 691 с.
5. Дистель В. А. Зубочелюстные аномалии и деформации: основные причины развития / В. А. Дистель, В. Г. Сунцов, В. Д. Вагнер. – М.: Медицинская книга, Н. Новгород: изд-во НГМА, 2001. – 102 с.
6. Доменюк Д. А. Оценка адаптационных процессов при использовании съёмной ортодонтической аппаратуры у детей / Д. А. Доменюк, В. А. Зеленский, Л. В. Ташуева, Ж. С. Орфанова, Е. Н. Иванчева // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2013. – Том XII. № 1 (44). – С. 50–57.
7. Доменюк Д. А. Оценка адаптационных механизмов при использовании съёмной ортодонтической аппаратуры у детей (антиоксидантные аспекты) / Д. А. Доменюк, В. А. Зеленский, А. Г. Карслиева, Е. Н. Иванчева // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2013. – Том XII. № 4 (47). – С. 10–14.
8. Доменюк Д. А. Оценка адаптационных механизмов при использовании съёмной ортодонтической аппаратуры у детей (иммунологические аспекты) / Д. А. Доменюк, А. Г. Карслиева, В. А. Зеленский // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2014. – Том XIII. № 1 (48). – С. 35–42.
9. Доменюк Д. А. Оценка гомеостатического равновесия по показателям местного иммунитета смешанной слюны у детей на этапах аппаратного лечения с использованием базисных материалов / Д. А. Доменюк, А. Г. Карслиева, И. М. Быков // Кубанский научный медицинский вестник. – Краснодар, 2014. – № 2 (143) – С. 60–68.
10. Доменюк Д. А. Сравнительная оценка микробной обсеменённости базисных материалов для ортодонтических аппаратов у детей и подростков / Д. А. Доменюк, В. А. Зеленский // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2012. – Том XI. № 3 (42). – С. 48–52.
11. Доменюк Д. А. Оценка корреляционных связей между электролитным составом и показателями местного иммунитета смешанной слюны у пациентов с аномалиями зубочелюстной системы (Часть I) / Д. А. Доменюк, В. А. Зеленский, А. Г. Карслиева // Институт стоматологии. – 2014. – № 2 (63). – С. 66–68.
12. Доменюк Д. А. Оценка корреляционных связей между электролитным составом и показателями местного иммунитета смешанной слюны у пациентов с аномалиями зубочелюстной системы (Часть II) / Д. А. Доменюк, В. А. Зеленский, А. Г. Карслиева // Институт стоматологии. – 2014. – № 3 (64). – С. 66–68.
13. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология. – К.: Полиграф-Плюс, 2006. – 480 с.
14. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕД пресс-информ, 2004. – 920 с.
15. Лемецкая Т. И. Клиническая оценка показателей неспецифического и специфического местного иммунитета полости рта при воспалительных заболеваниях пародонта: Метод. рекоменд. – М., 2008. – 26 с.
16. Мартынов А. И. Оценка местного иммунитета: Учебно-методическое пособие для врачей клинической лабораторной диагностики / А. И. Мартынов, С. С. Аршинова,

А. В. Симонова. — М.: ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России», 2007. — 27 с.

17. Николаева Е. Н. Опыт разработки стандартного метода молекулярно-генетической диагностики и оценки эффективности лечения заболеваний пародонта / Е. Н. Николаева, В. Н. Царев, С. Н. Щербо // Форум стоматологии. — 2004. — № 1 (13). — С. 20–24.

18. Николаева Е. Н. Применение молекулярно-генетических методов исследований в диагностике пародонтита / Е. Н. Николаева, В. Н. Царев, С. Н. Щербо // Институт стоматологии. — 2004. — № 4 (25). — С. 63–66.

19. Персин Л. С. Стоматология детского возраста / Л. С. Персин, В. М. Елизарова, С. В. Дьякова // Учебная литература для медицинских вузов. Изд. 5-е, перераб. и доп. — М.: «Медицина», 2006. — 640 с.

20. Ушаков Р. В. Применение генодиагностики для контроля персистенции пародонтопатогенных бактерий в полости рта здоровых и больных пародонтитом людей / Р. В. Ушаков, В. Н. Царев, Е. Н. Николаева // Стоматология. — 2004. — № 8. — С. 30–33.

21. Хорошилкина Ф. Я. Руководство по ортодонтии. — М.: Медицина, 2011. — 221 с.

22. Царев В. Н. Диагностика хронического генерализованного пародонтита молекулярно-генетическими и иммунологическими методами: Пособие для врачей / В. Н. Царев, Л. Я. Плахтий, И. А. Зуева. — М., 2004. — 48 с.

23. Царев В. Н. Микробиологическая диагностика воспалительных заболеваний полости рта и челюстно-лицевой области с помощью отечественной системы «МультиДент» / В. Н. Царев, Е. Н. Николаева // Сборник трудов 2-й Всероссий-

ской научно-практической конференции «Образование, наука и практика в стоматологии». — М., 2005. — С. 224–226.

24. Царев В. Н. Перспективы применения молекулярно-генетических методов исследований в диагностике пародонтита / В. Н. Царев, Е. Н. Николаева, Ю. М. Максимовский // Российский стоматологический журнал. — 2002. — № 5. — С. 6–9.

25. Царев В. Н. Современные методы микробиологической диагностики заболеваний тканей пародонта. Медицинский алфавит / В. Н. Царев, Е. Н. Николаева, А. С. Носик, С. Н. Щербо // Стоматология. — 2005. — № 2. — С. 26–29.

26. Arai K. Subjective classification and objective analysis of the mandibular dental-arch form of orthodontic patients / K. Arai, L. A. Will // Am. j. orthod. dentofacial. orthop. — 2011. — № 139 (4). Apr. — P. 315–321.

27. Bishara S. E. Longitudinal comparisons of dental arch changes in normal and untreated Class-II, Division-1 subjects and their clinical implication / S. E. Bishara, P. Bayati, J. R. Jakobsen // Am. j. orthod. dentofacial. orthop. — 2006. — № 110. — P. 483–489.

28. Heintze U. Secretion rate and buffer effect of resting and simulated whole saliva as a function of age / U. Heintze, D. Brikhead, H. Bjorn // Sweed dent. j. — 2003. — № 7. — P. 227–238.

29. Monsenego P. Presence of microorganisms on the fitting denture complete surface: study in vivo // J. oral. rehabil. — 2010. — № 27. — P. 708–713.

30. Nakatsuka M. A morphological study of maxillary dental arch using by Fourier analysis / M. Nakatsuka, S. Kumabe, Y. Iwai // J. Kyushu dent. soc. (Kyushu Shikagakkai Zasshi). — 2007. — № 60 (6). — P. 158–168.

Поступила 25.06.2014

Е. И. ДЫДЫШКО, О. С. ОХРЕМЕНКО, В. Д. ЛЕВИЧКИН

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНОАНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С ГИПОТИРЕОЗОМ НА ФОНЕ ТЭС-ТЕРАПИИ

Кафедра фундаментальной и клинической биохимии

ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России,

Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. +79882478840. E-mail: vochka@rambler.ru

В исследование участвовали 30 пациентов (25 женщин, 5 мужчин) в возрасте от 34 до 55 лет с подтвержденным диагнозом «гипотиреоз», средний возраст 43,5 года, длительность заболевания составила от 1 года до 15 лет (основная группа). Уровень ТТГ у пациентов варьировал от 5,15–99,27 мМЕ/л (27,26±4,20 мМЕ/л). В крови наблюдаемых пациентов установлено снижение активности каталазы в 2–2,5 раза ($p<0,05$), активности супероксиддисмутазы (СОД) на 18–19%, уровня свободных SH-групп эритроцитов и общей АОА плазмы в 2–2,5 раза ($p<0,05$). Уровень средних значений максимальной вспышки хемилюминесценции, площади вспышки хемилюминесценции и ТБК-активных продуктов свободнорадикального окисления в виде тиобарбитурового числа (ТБЧ) был выше показателей контрольной группы в 4, 3,3 и 3,1 раза соответственно ($p<0,05$). ФНО-альфа имел средние значения 8,41±0,6 пк/мл, что на 40,2% выше верхней границы референтных значений (0–6 пк/мл) и на 150,3% выше средних значений контрольной группы, ИЛ-8 составил в среднем 20,27±0,2 пк/мл, что в 2 раза выше верхней границы референта (0–10 пк/мл) и в 3,5 раза выше средних значений контрольной группы, а ИЛ-10 имел средние значения 3,38±0,3 пк/мл, что соответствует значениям референта (0–20 пк/мл), но в 2,6 раза меньше средних значений контрольной группы условно здоровых доноров.

Ключевые слова: ТЭС-терапия, эндотоксикоз, свободнорадикальное окисление, цитокины, гипотиреоз.