

СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ ПАРОДОНТИТОВ: ПОЛИМЕРИЗАЦИОННАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ



**Х.П. Камилов,
К.А. Тахирова**

**Ташкентский государственный
стоматологический институт, Узбекистан**

Summary

At present, it is believed that the synergistic interaction of microorganisms included in the biofilm community of the periodontal pocket, primarily the main representatives of the periodontal pathogenic microflora, is of paramount importance in the development of periodontal inflammatory diseases, against the background of a decrease in the nonspecific antimicrobial protection of the macroorganism. An effective solution in the diagnosis of dysbiotic disorders in the oral cavity is the use of the technology of quantitative real-time PCR analysis «PARODONTOSKRIN».

Актуальность. Пародонтит является многофакторным и многобактериальным заболеванием опорных тканей зубов, инициированных нарушениями в поддесневой биопленке и принимающий участие в гомеостазе. Симптомы болезни включают десневой отек и кровотечение, образование углубленных карманов пародонта, и воспалительное разрушение пародонтальной связки и альвеолярной кости. Наконец, нелеченый пародонтит может привести к потере зубов.

Разрушение ткани приводит к защитной реакции против бактериального заражения. Прогрессирование пародонтита характеризуется увеличением под-

десневой бактериальной нагрузки и трансформациями доминирования грамположительных бактерий к большинству грамотрицательных бактерий. Бактерии, связанные с пародонтитом, были разделены на две основных групп с цветовой кодировкой, так как эти бактерии неоднократно встречаются вместе при пародонтитах. «Красный комплекс» пародонтопатогенов, в том числе *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* и *Treponema denticola*, имеют особенно сильную ассоциацию с пародонтитом, связанную с клиническими параметрами, такими как глубина кармана, зондирование, кровотечение при зондировании. «Оранжевый комплекс» включает в себя типичные пародонтопатогены, связанные с углублением пародонтальных карманов, например, *Prevotella* интермедиа. Кроме того, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* входит в число бактерий, участвующих в патологии быстро прогрессирующих пародонтитов [1,3,4].

Существуют многочисленные способы для обнаружения и определения бактерий пародонта, например, культивирование микроорганизмов, конкретных видов ДНК - зондов, или обычной конечной точки полимеризационная цепная реакция (ПЦР). Все эти методы имеют ограничение для точного измерения концентрации специфических бактерий. В большинстве предыдущих исследований о количестве пародонтальных бактерий используется слюна, поддесневой зубной налет, как образец материала. Тем не менее, количество исследований изучающих бактериальную концентрацию, определяемую кПЦР и особенно комбинации нескольких бактерий ограничено [2,5,9]. Кроме того, количество бактерий в этих исследованиях было относительно ограничено.

Десневая жидкость является перспективным диагностическим материалом. Последние десятилетия широко проанализированы биомаркеры здоровья и болезни [4,6]. Образцы для исследования могут быть взяты без стоматологических медицинских специалистов или даже самими пациентами. Относительные уровни пародонтальных патогенов, по некоторым исследованиям [7] похожи в слюне и ротовой жидкости. Кроме того, слюна отражает общие условия во рту; в дополнение к поверхности зубов и зубодесневым карманам, пародонтальные патогены также могут быть найдены на языке и слизистой оболочке полости рта.

Цель исследования. Цель данной работы состояла в исследовании концентрации основных пародонтопатогенов и изучении их значения в диагностике пародонтита.

Материалы и методы

В данном исследовании были исследованы четыре важных вида пародонтопатогенов, *P. gingivalis*, *T.*

forsythensis, P. intermedia и A.actinomycetemcomitans у 50 лиц, перенесших детальное обследование пародонта. Материалом исследования послужила десневая жидкость, взятая с предполагаемой зоны поражения. Для выделения ДНК использовались наборы реагентов ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС. Оборудование, применяемое при проведении анализа – приборы серии ДТ производства ООО «НПО ДНК- ТЕХНОЛОГИЯ» (ДТлайт, ДТпрайм. ДТ-96) с четырьмя каналами детекции. Учет и интерпретация результатов реакции осуществлялись автоматически. Результаты были проанализированы в режиме реального времени КПЦР системы и бактериальные концентрации были вычислены из стандартных кривых, полученных из серийных разведений (1×10^{-5} - 1 нг) эталонных штаммов. Массы бактериальных геномов были вычислены из данных геномных размеров и конечные результаты выражены как геномные эквиваленты (GE) / мл десневой жидкости.

Результаты и обсуждение

Были изучены четыре основные пародонтальные бактерии с помощью количественной ПЦР в реальном времени (КПЦР). Концентрация в слюне Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythensis и Prevotella интермедиа, а также сумма концентраций четырех бактерий, была выше у пациентов со средне-тяжелым пародонтитом по сравнению с людьми с легкой степенью заболевания. Концентрация слюнных Aggregatibacter actinomycetemcomitans существенно не различалась между субъектами с легкой и средне-тяжелой степенью поражения пародонта. В логистической регрессии с поправкой на возраст, пол, наличие диабета, количество зубов, имплантатов, высокие концентрации в слюне P. gingivalis, T. forsythensis и P. intermedia были отмечены у пациентов со средне-тяжелой степенью пародонтита. При взгляде на различные клинические и рентгенографические параметры пародонтита, высокие концентрации P. gingivalis и T. forsythensis были связаны с глубиной пародонтальных карманов 4-5 мм, ≥ 6 мм, и альвеолярной потерей костной массы. Высокий уровень T. forsythensis был связан также с кровотечением при зондировании. Сочетание четырех бактерий, то есть, индекс бактериальной нагрузки, был связан со средне-тяжелой степенью пародонтита (OR) 2,40 (95% ДИ 1.39-4.13). Когда A. actinomycetemcomitans был исключен из комбинации бактерий, показатели улучшились до 2,61 (95% ДИ 1.51-4.52). Диагностика десневой жидкости при пародонтите имеет потенциал, особенно в крупномасштабных исследованиях населения, при пропаганде здорового образа жизни. Совокупная стратегия оказывается полезной при анализе бактерий в качестве маркеров пародонтита.

Испытуемых разделили на две группы, основываясь на их пародонтальном диагнозе: легкая и средне-тяжелая степень пародонтита. Испытуемые со средне-тяжелой степенью пародонтита были старше, среди них больше курящих мужчин, с большим количеством удаленных зубов, по сравнению с пациентами с легкой степенью пародонтита. P. gingivalis, T. forsythensis и P. intermedia, а также сумма концентраций четырех бактерий, была выше у пациентов со средне-тяжелой степенью пародонтита. Концентрация A.actinomycetemcomitans существенно не отличалась в двух группах.

Результаты проведенных нами исследований указывают на то, что концентрация P. gingivalis, T. forsythensis и P. intermedia связана с наличием пародонтита. Сочетание P. gingivalis и T. forsythensis имело самую сильную связь с пародонтитом по сравнению с четырьмя патогенами анализируемыми по отдельности и в комбинации. Результаты не зависят от возраста, пола, курения, наличия сахарного диабета, ИБС, а также от количества зубов и имплантатов.

Список литературы

1. Арутюнов С.Д., Верткин А.Л., Зайратьянц, Плескановская А.М. Две стороны одной проблемы: остеопороз в практике врача стоматолога, пародонтит в практике врача терапевта // Ортодонтия. – 2007. – №4. – С.8-12.
2. Белоусов Н.Н. Причины широкого распространения тяжелых форм воспалительных заболеваний пародонта // Пародонтология. – 2005. – Т.36, №3. – С.26-29.
3. Кожокеева В.А., Павкина Т.А. Обращаемость взрослого населения с болезнями пародонта в стоматологические поликлиники г. Бишкек // Наука и новые технологии. Бишкек. – №1. – 2010. – с. 126-129.
4. Boutaga K., Savelkoul P. H. M., Winkel E. G., van Winkelhoff A. J. Comparison of subgingival bacterial sampling with oral lavage for detection and quantification of periodontal pathogens by real-time polymerase chain reaction/ J. Periodontol.-2007.- №78.- P.79–86.
5. Buhlin K., Mäntylä P., Paju S., Peltola J. S., Nieminen M. S., Sinisalo J., et al. Periodontitis is associated with angiographically verified coronary artery disease/ J. Clin. Periodontol.- 2011.-N 38.-P. 1007–1014.
6. Costa P.P., Trevisan G. L., Macedo G. O., Palioto D. B., Souza S. L. S., Grisi M. F. M., et al. Salivary Interleukin-6, Matrix Metalloproteinase-8, and Osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes/ J. Periodontol. – 2010.- №81.-P. 384–391.
7. Giannobile W. V., McDevitt J. T., Niedbala R. S., Malamud D. Translational and clinical applications of salivary diagnostics/ Adv. Dent. Res.-2011.-№ 23.-P. 375–380.
8. Gursoy U. K., Könönen E., Pussinen P. J., Tervahartiala T., Hyvärinen K., Suominen A. L., et al. Use of host- and bacteria-derived salivary markers in detection of periodontitis: a cumulative approach/ Dis. Markers.-2011.-№ 30.-P. 299–305.
9. Haririan H., Andrukhov O., Bertl K., Lettner S., Kierstein S., Moritz A., et al. Microbial analysis of subgingival plaque samples compared to that of whole saliva in patients with periodontitis/ J. Periodontol.-2013.-№ 85.-P. 819–828.