

3. Торопова О.А. Исследование нового типа контрастирующего агента для УЗИ диагностики созданного на основе нанопорошковых технологий. 64 Всероссийская конференция «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения». Екатеринбург, 2009. - с. 36-38.

КЛИНИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ

Уварова Л. В.

Научный руководитель работы - д.м.н. Еловикова Т.М., д.м.н. Боронина Л.Г.

Кафедра терапевтической стоматологии УГМА

Воспалительно-деструктивные заболевания пародонта тесно связаны с изменением микробной флоры пародонтальных карманов. Сегодня подтверждена роль более чем 30 видов бактерий, вызывающих заболевания пародонта (ЗП), которые объединены в группу бактериальных пародонтопатогенов (периодонтопатогенов) [1-4, 10]. Для повышения качества лечения тяжелого пародонтита, особенно в стадии обострения процесса, необходимо применение антибактериальных препаратов с высокой микробной избирательностью и низким уровнем побочных эффектов, а также разработка четких практических рекомендаций по их применению [1-3, 5-9]. Одним из таких препаратов является азитромицин (АЗМ). АЗМ обладает способностью накапливаться в фагоцитах и полиморфно-ядерных лейкоцитах, которые, попадая в очаг воспаления, неизбежно разрушаются и высвобождают значительное количество азитромицина во внеклеточное пространство. АЗМ - один из самых востребованных макролидных антибиотиков при разных видах инфекционных заболеваний [3]. Ряд исследований подтверждают антибактериальное (*in vitro*), противовоспалительное и иммуномодулирующее действие азитромицина, также показана высокая чувствительность отдельно выделенных бактериальных пародонтопатогенов к АЗМ [8,9].

Для более полной оценки эффективности лечения АЗМ больных тяжелым пародонтитом проведено клиническое и молекулярно-генетическое исследование – изучен спектр микроорганизмов в пародонтальных карманах до и после курса применения препарата.

Цель исследования – оптимизация комплексной терапии больных тяжелым пародонтитом с применением азитромицина на основании данных клинического и молекулярно-генетического исследования.

Материалы и методы исследования

Клинические исследования проведены на кафедре терапевтической стоматологии УГМА. Для достижения поставленной цели нами обследовано 46 пациентов, обратившихся за помощью в стоматологическую клинику УГМА в возрасте от 33 до 47 лет (26 женщин и 20 мужчин).

Всем пациентам проведено обследование и комплексная терапия пародонтита, которая включала методы консервативного, хирургического и ортопедического лечения. Обследование проводили по стандартной методике. Диагноз ставился на основании данных клинического и рентгенологического исследования.

В первое посещение пациенты жаловались на боли в деснах, выраженную кровоточивость, гноетечение из карманов, увеличение подвижности зубов, в трех случаях – повышение температуры тела, недомогание. Субъективная симптоматика нашла подтверждение при обследовании пациентов – выявлено формирование пародонтальных абсцессов, выраженная болезненность при пальпации десны, отечность и гиперемия межзубной, краевой и альвеолярной десны, значительная подвижность зубов, пародонтальные карманы с гнойным отделяемым.

Клиническая эффективность АЗМ оценивалась с применением индексов: зубного налета (Green-Vermillion), кровоточивости (Silness-Loe), папиллярно-маргинально-альвеолярного – РМА (Parma), пародонтального ПИ (Russell). Оценку индексов проводили в соответствии со стандартной методикой [4-6].

В первое посещение всем пациентам проводилась адекватная медикаментозная обработка и профессиональная гигиена полости рта; контроль методики и режима гигиенического ухода, обучение при необходимости. Всем пациентам назначался прием препарата азитромицин 500 мг один раз в день за 30 мин до еды в течение 3 дней. Прием других антибактериальных препаратов был запрещен. Все пациенты имели сопутствующую патологию со стороны внутренних органов в стадии ремиссии.

После определения исходных клинических параметров всем пациентам проводили молекулярно-генетическое исследование на кафедре клинической, лабораторной и микробиологической диагностики ФПК и ПП УГМА. Для обнаружения маркеров пародонтопатогенов – наиболее частых возбудителей заболеваний пародонта — *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia* – была использована мультиплексная ПЦР-тест-система «Дентал», разработанная ЗАО «Гентех» (Москва).

Взятие материала из пародонтального кармана проводилось до и после лечения больных - бумажным штифтом. Штифт вводился пинцетом в пародонтальный карман до дна на 10 сек, после чего помещался в пробирку с лизирующим раствором и доставлялся в лабораторию в течение 3 часов. При невозможности доставки материала в первый день, материал замораживался и хранился при температуре -20 с. Повторно материал для исследования брали из пародонтальных карманов стерильными бумажными штифтами через 2 недели после назначения АЗМ.

Статистическая обработка полученных результатов производилась с помощью программного пакета Statistica 2006.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате исследования установлено, что уже ко второму посещению – через 2-3 дня после применения АЗМ все пациенты отмечали некоторое улучшение состояния полости рта, что подтверждено клиническими проявлениями и индексной оценкой. Данные клинических наблюдений через 2 недели после проведения терапии показали достоверное снижение индексов зубного налета Green-Vermillion ($p < 0,005$), кровоточивости Silness-Loe ($p < 0,05$), Пагма ($p < 0,05$), пародонтального Russell ($p < 0,05$). Аллергических реакций и побочных эффектов при использовании азиромицина нами не выявлено.

У значительной части больных (45 пациентов) через 2 недели лечения исчезала кровоточивость дёсен, полностью устранялось выделение гнойного экссудата из пародонтальных карманов. По результатам клинико-лабораторной оценки можно утверждать, что препарат АЗМ в данной дозировке обладает высокой активностью воздействия на микробную флору пародонтальных карманов. Так, выявлено снижение количества *Porphyromonas gingivalis* с 80% до 30%, ($p < 0,005$); *Treponema denticola* - с 73% до 20%, ($p < 0,005$); *Actinobacillus actinomycetemcomitans* - с 49% до 37% ($p > 0,005$); *Prevotella intermedia* - с 69% до 53% ($p > 0,005$); *Bacteroides forsythus* - с 86% до 60% ($p > 0,005$).

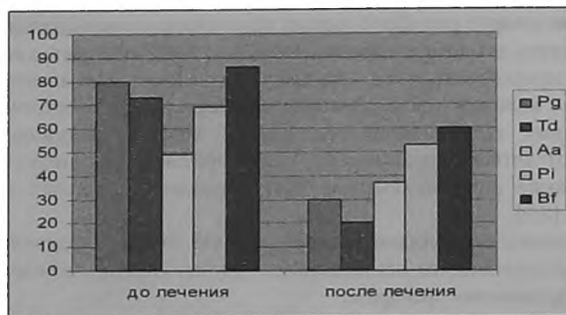


Рис. 1. Динамика выявления бактериальных патогенов в пародонтальных карманах у больных тяжелым пародонтитом

Проведение микробиологических и молекулярно-генетических исследований содержимого пародонтальных карманов позволяет обосновать этиологический диагноз заболевания, назначить адекватную антибактериальную терапию с использованием АЗМ, направленную на купирование воспаления, и создать оптимальные условия для последующих этапов комплексного лечения больных тяжелым пародонтитом (хирургического, ортопедического). Идентификация бактериальных пародонтопатогенов может помочь своевременно прогнозировать возможные рецидивы заболевания и контролировать стабильность ремиссии пародонтита.

Выводы

1. На основе молекулярно-генетического исследования (ПЦР) и клинических данных, выявлена высокая эффективность данного препарата.

2. АЗМ может быть рекомендован при обострении тяжелого пародонтита в данной дозировке – препарат имеет высокую активность и удобен в применении.

3. Нами выявлено снижение микробной обсемененности пародонтальных карманов. При этом достоверное снижение выявлено у *Porphyromonas gingivalis* ($p < 0,005$) и *Treponema denticola* ($p < 0,005$). Также нами выявлено снижение частоты выявления *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ($p > 0,005$); *Bacteroides forsythus* ($p > 0,005$), *Prevotella intermedia* ($p > 0,005$), однако различия для них не были статистически значимые. Что возможно связано с небольшим объемом исследуемой выборки.

4. Метод молекулярно-генетического исследования (ПЦР) точен надежен и доступен для практического здравоохранения. ПЦР позволяет идентифицировать основные бактериальные пародонтопатогены – *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia* – и правильно оценивать эффективность проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тец В.В. Роль микрофлоры полости рта в развитии заболеваний человека [Текст] /В.В. Тец // Стоматология, 2008. - №3. – С.76-80.
2. Плахтий Л.Я. Микробиологические и молекулярно-генетические показания назначения антибактериальной терапии в комплексном лечении пародонтита [Текст] / Л.Я. Плахтий, В.Н.Царев, Е.Н.Николаева, А.В. Митронин // Стоматолог, 2008. - №9. – С.45-52.
3. Парохонский А.П. Микробиология и патология биопленки полости рта [Текст] /А.П. Парохонский // Современные наукоемкие технологии, 2008. - № 2. - С. 6-7.

4. Страчунский Л.С. Современная антимикробная химиотерапия [Текст]/ Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов.- М.: Боргес, 2002.- 436 с.
5. Еловикова Т.М. Заболевания пародонта при гипофункции слюнных желез (клинические проявления, диагностика, профилактика, лечение) [Текст]/ Т.М. Еловикова // Автореф. Дисс. Доктора мед. наук. - Екатеринбург. - 2000г. - с. - 44.
6. Кисельникова Л.П. Роль антибиотикотерапии и антибиотикопрофилактики в комплексном лечении заболеваний пародонта [Текст]/ Л.П. Кисельникова // Стоматолог, 2008. - №3. - С.19 – 21.
7. Орехова Л.Ю. Комплексная оценка эффективности применения препарата «Цифран СТ» при обострении воспаления в пародонте [Текст]/ Л.Ю. Орехова, О.В. Прохорова, М.В.Осипова, И.Р.Мошкевич// Пародонтология, 2006г.- № 2 (39). – С.61-63.
8. John A. Martin, Roy C. Page, Elizabeth Krall Kaye, Mohamed T. Hamed, Carl F. Loeb Periodontitis Severity Plus Risk as a Tooth Loss Predictor 2009, -Vol. 80, No. 2.- P. 202-209.
9. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases [Text]/ Martin J Blaser// EMBO Rep. 2006 October; 7(10)-P. 956–960.
10. David L. Cochran Inflammation and bone loss in Periodontal Disease 2008.-Vol. 79, 8s.- P. 1569-1576.

ПРИМЕНЕНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДЕФЕКТОВ КОЖИ

Улыбин А.И., Зубанов П.С., Малишевская Е.Г.

Научный руководитель – д.м.н., профессор Makeев О.Г.

ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрава»

ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Ухудшение механических качеств дермы по мере старения организма во многом определяется снижением активности и количества клеточной составляющей дермы - фибробластов. В первую очередь утрачивается способность к образованию поперечных межволоконных связей и к синтезу гиалуроновой кислоты. В то же время разрушительная способность фибробластов в основном сохраняется. Поэтому в стареющей коже толщина дермы уменьшается, содержание влаги падает, а кожа теряет упругость и эластичность, появляются морщины.

Поэтому радикальное решение проблемы коррекции возрастных изменений перенесено в область применения клеточных технологий для заместительной терапии.

Вместе с тем, целый ряд проблем как биологического, так и этического характера выводит методы, использующие генетически идентичные реципиенту аутогенные клетки, в число исключительно возможных для практического использования. Их применению с целью коррекции возрастных изменений препятствует сложность работы с «взрослыми» клетками и ограниченный восстановительный потенциал клеток стареющего организма.

Ранее нами было показано, что эти трудности могут быть успешно преодолены при условии правильного выбора участка кожи для эксплантации, условий культивирования и строгом контроле качества и безопасности клеточного материала, накапливающегося в ходе культивирования.

Цель исследования - обоснование и разработка метода коррекции изменений кожи с использованием собственных (аутогенных) фибробластов кожи пациента, культивированных *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в Лаборатории молекулярных медицинских технологий Уральской госмедакадемии с привлечением баз косметологических салонов и лечебно-профилактических учреждений г. Екатеринбурга. Работа выполнялась в соответствии с решением Этического комитета и Ученого совета Уральской госмедакадемии Росздрава, утвердившего программу научно-исследовательских работ и протоколы доклинических и клинических испытаний клеточных технологий.

Эксперименты осуществлялись с учетом международных норм GLP (Кодекс правил для лабораторных исследований) и GCP (Кодекс правил для клинических испытаний). В испытаниях принимали участие 56 пациентов в возрасте от 43 до 65 лет.

Клетки после снятия с флакона или разморозки во всех случаях отмывали центрифугированием (150g; 10 мин; 4°C) с удалением супернатанта. Жизнеспособность и пролиферативная активность клеток перед введением составляла не менее 95%. Суспензию клеток, отмытых на 0,9% растворе NaCl, разогревали до 37°C непосредственно перед введением.

Выбор зоны введения клеток для терапевтической коррекции кожи осуществлялся самим пациентом на основании субъективного определения наиболее проблемной области лица и согласовывался с врачом-косметологом.

Количество однократно вводимых клеток варьировало в зависимости от объема проблемной зоны и составляло в среднем от 3×10^6 до 15×10^6 . Разовый объем вводимого препарата - 1-3 мл. Клетки вводили пациентам методом «папуль» для крупных морщин, обкалывания мелких морщин или равномерно на площадь проблемной зоны с помощью микроинъекций; введение повторялось 2 – 4 раза с 7-10- дневными перерывами.