

DOI: 10.37988/1811-153X_2020_3_44

В.В. Еричев¹,

к.м.н., профессор, зав. кафедрой
стоматологии факультета повышения
квалификации и профессиональной
переподготовки специалистов

С.И. Рисованный¹,

д.м.н., профессор кафедры стоматологии
факультета повышения квалификации
и профессиональной переподготовки
специалистов

Е.С. Овчаренко¹,

к.м.н., доцент кафедры стоматологии
факультета повышения квалификации
и профессиональной переподготовки
специалистов

С.В. Мелехов²,

д.м.н., профессор, директор
стоматологической клиники

¹ КубГМУ² ООО «Метростом», Краснодар

Эффективность применения пробиотиков для коррекции микробиоценоза и цитокинового баланса во рту пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Еричев В.В., Рисованный С.И., Овчаренко Е.С., Мелехов С.В. Эффективность применения пробиотиков для коррекции микробиоценоза и цитокинового баланса во рту пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта. — *Клиническая стоматология*. — 2020; 3 (95): 44—7.
DOI: 10.37988/1811-153X_2020_3_44

Реферат. Цель исследования — оптимизировать комплексную схему лечения воспалительных заболеваний пародонта путем включения пробиотика и оценки микробиоценоза и цитокинового баланса во рту. **Материалы и методы.** Обследовано 120 пациентов, из них 50 больных с хроническим маргинальным гингивитом простым и 50 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. Пациентам проведена клиническая, микробиологическая, микологическая и иммунологическая оценка состояния тканей пародонтального комплекса до и через 3, 6 и 12 месяцев после лечения. Из каждой группы 50% пациентов получали лечение по традиционной методике, а 50% — по усовершенствованной схеме с применением пробиотика «Бифидумбактерин форте». **Результаты.** Установлено, что у пациентов с хроническим маргинальным гингивитом простым и хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести определяется высокая степень обсемененности пародонтальных карманов дрожжеподобными грибами рода *Candida* и бактериальной условно-патогенной микрофлорой, что напрямую связано с повышением провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-8), уменьшением концентрации INF- γ и увеличением уровня противовоспалительного цитокина IL-4. **Заключение.** Динамическая оценка клинико-лабораторных показателей на фоне комплексной терапии с использованием пробиотика и традиционного метода лечения указывает на повышение эффективности лечебных мероприятий хронического маргинального гингивита простого на 40%, а хронического пародонтита на 37%.

Ключевые слова: гингивит, пародонтит, биоупленка, цитокины, пробиотики

V.V. Erichev¹,

PhD in Medical sciences, professor, head
of the Dentistry Department in the Faculty
of Advanced training and specialists'
professional retraining

S.I. Risovannij¹,

Grand PhD in Medical sciences, professor
of the Dentistry Department in the Faculty
of Advanced training and specialists'
professional retraining

E.S. Ovcharenko¹,

PhD in Medical sciences, associate professor
of the Dentistry Department in the Faculty
of Advanced training and specialists'
professional retraining

Efficiency of application of probiotics for correction of microbiocenosis and cytokine balance of the oral cavity of patients with chronic inflammatory diseases of periodontium

FOR CITATION:

Erichev V.V., Risovannij S.I., Ovcharenko E.S., Melekhov S.V. Efficiency of application of probiotics for correction of microbiocenosis and cytokine balance of the oral cavity of patients with chronic inflammatory diseases of periodontium. — *Clinical Dentistry (Russia)*. — 2020; 3 (95): 44—7.
DOI: 10.37988/1811-153X_2020_3_44

Abstract. The aim of the study was to optimize a comprehensive treatment regimen for inflammatory periodontal diseases by including a probiotic and evaluating the microbiocenosis and cytokine profile in the mouth. **Materials and methods.** 120 patients were examined, of which 50 patients with chronic marginal gingivitis simple and 50 patients with chronic generalized

S.V. Melekhov²,

Grand PhD in Medical sciences, professor,
director of dental clinic

¹ Kuban State Medical University, Krasnodar,
Russia

² Metrostom Ltd, Krasnodar, Russia

periodontitis. Patients underwent a clinical, microbiological, mycological and immunological assessment of the state of the tissues of the periodontal complex before and after 3, 6 and 12 months after treatment. Of each group, 50% of patients received treatment according to the traditional method, and 50% according to an improved regimen using the Bifidumbacterin forte probiotic. **Results.** It has been established that in patients with chronic marginal gingivitis simple and chronic generalized periodontitis of moderate severity, a high degree of contamination of periodontal pockets with yeast-like fungi of the genus *Candida* and bacterial opportunistic microflora is determined, which is directly associated with an increase in pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-8), a decrease in the concentration of INF- γ and an increase in the level of anti-inflammatory cytokine IL-4. **Conclusions.** A dynamic assessment of clinical and laboratory parameters against the background of complex therapy using a probiotic and a traditional method of treatment indicates an increase in the effectiveness of therapeutic measures for chronic marginal gingivitis simple by 40%, and chronic g periodontitis by 37%.

Key words: gingivitis, periodontitis, biofilm, cytokines, probiotics

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе в этиологии, патогенезе и лечении воспалительных заболеваний пародонта остаются нерешенные вопросы [5]. Одним из важных приложений научных усилий ученых остается изучение микробного фактора, входящего в состав биопленок, как ведущей причины патологии пародонта с учетом иммунитета [6, 7].

Определена ведущая роль пародонтопатогенных микроорганизмов [8]. Применение в этой связи антибактериальных и местных антимикробных препаратов зачастую не дает желаемых результатов — лечебный эффект краткосрочный. Кроме того, нарушается баланс между отдельными видами грибово-бактериальных ассоциаций, вызывая дисмикробиотические сдвиги во рту. В связи с этим происходит активное размножение условно-патогенных микроорганизмов — представителей нормофлоры: *Candida*, *St. oralis*, *St. uberis*. Исследователи пытаются решить эту проблему с помощью пробиотиков, учитывая их положительные свойства [3], но некоторые авторы неоднозначно относятся к данному подходу [2], так как пробиотики IV поколения, к которым относят иммобилизованные на сорбентах бифидосодержащие препараты (Бифидумбактерин форте, Пробифор), эффективно колонизирующие слизистую оболочку рта и кишечника, обладают иммуномодулирующим действием: регулируют функции гуморального и клеточного иммунитета, препятствуют деградации секреторного иммуноглобулина А, стимулируют интерферонообразование и выработку лизоцима.

Цель исследования — повысить эффективность комплексной терапии больных с хроническим маргинальным гингивитом простым и пародонтитом средней степени тяжести путем включения в комплексную терапию пробиотиков в сочетании с оценкой микробного пейзажа и цитокинового баланса во рту.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В данной работе приняли участие 120 пациентов мужского пола от 20 до 50 лет с воспалительными

заболеваниями пародонта. Лечение и наблюдение проходило на базе стоматологической поликлиники КубГМУ. В зависимости от метода проводимой терапии все пациенты были разделены на 3 группы — контрольную, основную и группу сравнения:

- I — 20 человек со здоровым пародонтом;
- II — 50 больных с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести (ХГПССТ);
- III — 50 пациентов с хроническим маргинальным гингивитом простым (ХМГП).

Традиционная терапия включала следующие мероприятия: профессиональная гигиена рта, устранение травматической окклюзии, временное или постоянное шинирование подвижных зубов, кюретаж пародонтальных карманов (ПК), назначение внутрь десенсибилизирующих, общеукрепляющих и нестероидных противовоспалительных препаратов, а также консультации по индивидуальной гигиене рта.

Усовершенствованная схема лечения пациентов II группы включала применение пробиотика Бифидумбактерин форте («Партнер», Россия) внутрь и в качестве полосканий — по 10 доз 2 раза в сутки в течение 14 дней в активной фазе лечения и по 5 доз в день в течение 1 месяца во время поддерживающей терапии.

Всем пациентам определяли пародонтологический статус по индексам гигиены Грина—Вермильона (ОНИ-S), нуждаемости в лечении (СПITN) и кровоточивости (РВІ) по Saxer—Muhlleman.

Оценка эффективности метода лечения проведена на основе изучения уровня про- (INF- γ , TNF- α , IL-8) и противовоспалительных (IL-4) цитокинов в сосочковой крови и содержимом ПК и десневого желобка (ДЖ) у пациентов II и III группы до лечения, через 6 и 12 месяцев после завершения лечения.

В ДЖ и ПК на 2—3 секунды вносили бумажные пинь 50-го размера для высушивания корневых каналов, которые затем помещали в стерильные пробирки Эппендорфа, заполненные 1,5 мл физиологического раствора. Через 2 часа проводили посев материала секторальным методом на 5% кровяной, шоколадный агар и хромогенную селективную среду Candiselect 4 Bio-rad (Франция). Культивирование проводили при

температуре 37°C в течение 24 часов. После термостатирования выполняли количественный подсчет колоний микроорганизмов каждого вида. Штаммы идентифицировали с использованием бактериологического анализатора miniAPI (Biomerieux, Франция). Полученные результаты обсемененности подсчитывали через 3, 6 и 12 месяцев и выражали через десятичный логарифм колониеобразующих единиц КОЕ/мл.

Таблица 1. Статистический анализ показателей пародонтальных индексов до и после лечения (в числителе — среднее значение, в знаменателе — доля пациентов, попадающих в доверительный интервал, в %)

Группа	ИГ	СРITN	PBI
I	$\frac{0,25 \pm 0,01}{95}$	$\frac{0}{100}$	$\frac{0,16 \pm 0,07}{100}$
III (n=50)	$\frac{2,10 \pm 0,08}{85}$	$\frac{1,2 \pm 0,04}{70}$	$\frac{0,7 \pm 0,07}{70}$
Через 3 месяца (n=40)	$\frac{1,20 \pm 0,07}{90}$	$\frac{0,6 \pm 0,03}{75}$	$\frac{0,3 \pm 0,06}{70}$
Через 6 месяцев (n=40)	$\frac{0,60 \pm 0,07}{90}$	$\frac{0,3 \pm 0,02}{75}$	$\frac{0,1 \pm 0,04}{70}$
Через 12 месяцев (n=40)	$\frac{0,30 \pm 0,7}{90}$	$\frac{0,13 \pm 0,05}{90}$	$\frac{0,16 \pm 0,08}{90}$
II (n=50)	$\frac{4,90 \pm 0,7}{90}$	$\frac{3,5 \pm 0,1}{90}$	$\frac{2,3 \pm 0,12}{90}$
Через 3 месяца (n=40)	$\frac{2,50 \pm 0,08}{90}$	$\frac{2,5 \pm 0,07}{90}$	$\frac{1,5 \pm 0,16}{90}$
Через 6 месяцев (n=40)	$\frac{1,90 \pm 0,08}{90}$	$\frac{1,85 \pm 0,1}{90}$	$\frac{0,17 \pm 0,01}{90}$
Через 12 месяцев (n=40)	$\frac{1,50 \pm 0,08}{90}$	$\frac{1,35 \pm 0,1}{90}$	$\frac{0,16 \pm 0,01}{90}$

Таблица 2. Качественные (в числителе, Ig КОЕ/мл) и количественные (в знаменателе, %) результаты микробиологических исследований до лечения

Микроорганизм	III группа	II группа	I группа
<i>Streptococcus oralis</i>	$\frac{6,0 \pm 0,8^*}{17,5}$	$\frac{6,6 \pm 0,5^*}{35}$	$\frac{1,7 \pm 0,9}{60}$
<i>Streptococcus sanguis</i>	$\frac{5,3 \pm 0,5^\dagger}{52,5}$	$\frac{7,2 \pm 0,7^*}{70}$	$\frac{1,7 \pm 0,9}{40}$
<i>Stomatococcus mucilaginosus</i>	$\frac{6,7 \pm 0,6^*}{17,5}$	$\frac{6,6 \pm 0,5^*}{17,5}$	0
<i>Streptococcus mitis</i>	$\frac{5,7 \pm 0,5^* \dagger}{35}$	$\frac{7,6 \pm 0,5^*}{70}$	$\frac{2,3 \pm 0,9}{40}$
<i>Streptococcus anginosus</i>	$\frac{5,0 \pm 0,8^*}{17,5}$	$\frac{5,4 \pm 0,5^*}{17,5}$	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	$\frac{5,7 \pm 0,5^* \dagger}{52,5}$	$\frac{7,2 \pm 0,5^*}{70}$	$\frac{1,7 \pm 0,9}{40}$
<i>Streptococcus salivarius</i>	$\frac{5,3 \pm 0,5^*}{52,5}$	$\frac{5,2 \pm 0,4^*}{70}$	$\frac{1,7 \pm 0,9}{40}$
<i>Eutercoccus casseliflavus</i>	$\frac{6,6 \pm 0,5^*}{17,5}$	$\frac{5,4 \pm 0,5^*}{35}$	0
<i>Candida albicans</i>	$\frac{2,3 \pm 0,5}{32,5}$	$\frac{1,6 \pm 1,9}{22,5}$	$\frac{1,5 \pm 0,8}{26,6}$
<i>Candida tropicalis</i>	$\frac{4,0 \pm 0,9^* \dagger}{75}$	$\frac{6,6 \pm 1,0^*}{75}$	$\frac{2,0 \pm 0,9}{46,6}$

Примечание. Различия статистически достоверны ($p < 0,05$): * — в сравнении с I группой; † — между II и III группой.

Кровь из ДЖ и ПК помещали в стерильные пробирки и хранили при 18°C. Все этапы иммунологического анализа проходили на фотометре «Anthos 2010» (Австрия) в термостатируемых условиях на шейкерах-инкубаторах «ST-3» (Латвия). Концентрацию цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием реагентов «Вектор-Бест» (Новосибирск) на базе отдела клинической и экспериментальной иммунологии КубГМУ.

При статистической обработке результатов применяли t -критерий Стьюдента. Данный вариант статистической обработки наиболее актуален, так как может применяться для сравнения независимых выборок, а также для сравнения связанных совокупностей (например, микробиологических, иммунологических, индексных показателей у одних и тех же пациентов до и после лечения). Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты клинического обследования и оценка показателей ОHI-S указывают на то, что у 85% пациентов III и у 90% II группы выявляется неудовлетворительная гигиена рта, а также определяются повышенные показатели СРITN и PBI относительно показателей в норме (табл. 1).

Положительная динамика клинического состояния полости рта определяется у пациентов как III, так и II группы. Определена достоверность различий показателей у пациентов II группы, которых лечили по усовершенствованной методике по сравнению с пациентами I группы ($p < 0,01$).

Результаты микробиологических и микологических исследований представлены в табл. 2, они указывают на тяжелую степень колонизации и высокую распространенность в ПК грибково-бактериальных ассоциаций.

По результатам микробиологической диагностики установлено, что у пациентов II группы через 6 месяцев наблюдается достоверное снижение степени обсемененности ПК. Через 12 месяцев колонии *S. tropicalis* вообще не выявлялись, а количественный и качественный состав бактериальной флоры существенно изменился: такие представители бактериальной микрофлоры, как *Str. oralis* и *Str. mitis*, встречались в количестве до $2,2 \pm 1,1$ КОЕ/мл в 57% случаев, что в 3 раза меньше, чем до лечения ($p < 0,05$), и, вероятнее всего, связано с модулирующим действием Бифидумбактерина.

У пациентов III группы через 6 месяцев наблюдается достоверное снижение колониеобразования всех видов микроорганизмов бактериальной природы в 2 раза ($p < 0,05$). Через 12 месяцев снова выявляется умеренная степень обсемененности ПК — до $4,0 \pm 0,7$ КОЕ/мл — в 100% случаев ($p < 0,01$), в 100% случаев — активное колониеобразование грибов рода *Candida* в ПК с повышением показателей до $6,3 \pm 1,2$ КОЕ/мл, и грибково-бактериальных ассоциаций — в 65% случаев, что

свидетельствует о восстановлении первоначального микробного пейзажа во рту через 1 год на фоне традиционной терапии.

Результаты иммунологических исследований по изучению содержания про- и противовоспалительных цитокинов в сосочковой крови и содержимом ПК больных II группы (INF- γ — 1,410 \pm 0,008, TNF- α — 10,80 \pm 0,05, IL-4 — 1,24 \pm 0,06, IL-8 — 157,1 \pm 1,3 пг/мл) и III группы (INF- γ — 2,10 \pm 0,03, TNF- α — 47,0 \pm 0,9, IL-4 — 1,43 \pm 0,08, IL-8 — 754,4 \pm 1,3 пг/мл) указывают на достоверно низкие показатели концентрации INF- γ и достоверно высокий уровень TNF- α , IL-8, IL-4 ($p < 0,01$) по сравнению со здоровыми лицами (INF- γ — 37,7 \pm 0,9, TNF- α — 14,6 \pm 0,7, IL-4 — 1,64 \pm 0,01, IL-8 — 113,2 \pm 0,5 пг/мл).

Для оценки эффективности лечения был рассчитан коэффициент цитокинового баланса (КЦБ):

$$\text{КЦБ} = \frac{\text{IL-8} + \text{INF-}\gamma + \text{FNO-}\alpha}{\text{IL-4}}$$

Уменьшение или увеличение КЦБ у больных по сравнению со здоровыми испытуемыми свидетельствует о нарушении баланса про- и противовоспалительных цитокинов: чем сильнее нарушается это соотношение, тем тяжелее протекает заболевание.

Оценка уровня КЦБ показала, что достоверное ($p < 0,01$) снижение уровня цитокинового баланса наблюдается у больных II группы, в отличие от пациентов с традиционным лечением.

Лечение больных с применением Бифидумбактерина форте характеризуется ускоренными по сравнению с традиционными методами терапии темпами нормализации показателей про- и противовоспалительных

цитокинов, а также снижением уровня КЦБ до показателей, характерных для здоровых лиц, что свидетельствует о модулирующем характере действия препарата и о его противовоспалительной эффективности.

По результатам собственных исследований и данных литературы можно говорить о ведущей роли дефицита INF- γ в развитии хронического пародонтита [1]. Низкое содержание INF- γ в ДЖ и ПК способствует угнетению фагоцитарной активности макрофагов, что в свою очередь обеспечивает защитный эффект для клеток *Candida*, способствуя сохранению жизнеспособности грибковой клетки на фоне рассогласования противовоспалительного иммунного ответа в пародонте.

ВЫВОДЫ

Использование пробиотика Бифидумбактерин форте в комплексе терапевтических мероприятий позволяет достоверно уменьшить степень обсемененности ПК представителями грибково-бактериальных ассоциаций *C. tropicalis* и *Str. oralis* в 4 раза ($p < 0,01$) за счет антагонистического действия препарата в отношении условно-патогенных микроорганизмов. В состоянии нормы находится коэффициент цитокинового баланса в содержимом ПК, ДЖ и сосочковой крови, без последующей тенденции к возврату исходного уровня показателей про- (INF- γ , TNF- α , IL-8) и противовоспалительных (IL-4) цитокинов в течение 1 года и более, в отличие от показателей цитокинового баланса при традиционных терапевтических схемах лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

.....

1. Булгакова А.И., Васильева Н.А., Имельбаева Э.А., Хайбуллина Э.М. Клинико-иммунологическая характеристика локального иммунитета у больных с хроническим катаральным гингивитом. — *Пародонтология*. — 2018; 2 (87): 29—35.

[Bulgakova A.I., Vasilyeva N.A., Imelbaeva E.A., Khaibullina E.M. Clinical and immunological characteristics of local immunity in patients with chronic catarrhal gingivitis. — *Parodontologiya*. — 2018; 2 (87): 29—35 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 35786791

2. Захаренко С.М. Пробиотики: концепция новая или старая? — *Медицинский Совет*. — 2018; 14: 56—60 [Zakharenko S.M. Probiotics: a new or an old concept? — *Medical Council*. — 2018; 14: 56—60 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 35730090

3. Ковалевский А.М., Ушакова А.В., Ковалевский В.А., Прожерина Е.Ю. Бактериальная биопленка пародонтальных карманов: переосмысление опыта пародонтологии. — *Пародонтология*. — 2018; 2 (87): 15—21 [Kovalevskiy A.M., Ushakova A.V., Kovalevskiy V.A., Prozhirina E.Yu. Bacterial biofilm of periodontal pockets: the revision of periodontology experience. — *Parodontologiya*. — 2018; 2 (87): 15—21 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 35786789

4. Мирсаева Ф.З., Закирьянов М.М., Ханов Т.В., Губайдуллин Р.Н. Состояние иммунитета при хроническом генерализованном пародонтите у больных синингомией. — *Пародонтология*. — 2018; 3 (88): 44—7 [Mirsaeva F.Z., Zakiryaynov M.M., Khanov T.V., Gubaydullin R.N. Parameters of immunity in chronic generalized periodontitis

in syringomyelia patients. — *Parodontologiya*. — 2018; 3 (88): 44—7 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 36409043

5. Ценов Л.М., Николаев А.И., Петрова Е.В., Нестерова М.М. Патогенетическое обоснование клинического применения медикаментов в комплексной терапии при воспалительных заболеваниях пародонта. — *Пародонтология*. — 2018; 2: 4—9

[Tsepov L.M., Nikolaev A.I., Petrova E.V., Nesterova M.M. Pathogenetic substantiation of clinical use medicines in complex therapy of inflammatory periodontal diseases (a review of the literature). — *Parodontologiya*. — 2018; 2: 4—9 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 35786786

6. Baeza M., Garrido M., Hernández-Ríos P., Dezerega A., García-Sesnich J., Strauss F., Aitken J.P., Lesaffre E., Vanbelle S., Gamonal J., Brignardello-Petersen R., Tervahartala T., Sorsa T., Hernández M. Diagnostic accuracy for apical and chronic periodontitis biomarkers in gingival crevicular fluid: an exploratory study. — *J Clin Periodontol*. — 2016; 43 (1): 34—45. PMID: 26556177

7. Stadler A.F., Angst P.D.M., Arce R.M., Gomes S.C., Oppermann R.V., Susin C. Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. — *J Clin Periodontol*. — 2016; 43 (9): 727—45. PMID: 27027257

8. Ahmedbeyli C.R. Oral application of probiotics in the treatment of peri-implant mucositis. — *Parodontologiya*. — 2019; 3: 232—5. eLIBRARY ID: 40548062