



РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

ТЮРИН С.М. – очный аспирант кафедры стоматологии факультета ДПО с курсом организации медицинской помощи ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава РФ

МИШУТИНА О.Л. – к.м.н., доцент кафедры стоматологии факультета ДПО с курсом организации медицинской помощи ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава РФ

МОРОЗОВА Т.Г. – д.м.н., доцент, зав. кафедрой лучевой диагностики и лучевой терапии с курсом ФДПО ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава РФ



АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Генерализованный пародонтит рассматривается как **мультифакторное заболевание**, которое инициируется пародонтопатогенной микрофлорой [Цепов Л. М., Николаев А.И. с соавт., 2020]

Ревматоидный артрит (РА) –это системное воспалительное **аутоиммунное заболевание**, характеризующееся хроническим воспалением, **выработкой антител к цитруллинированным белкам**, приводящим к воспалению и разрушению синовиальной оболочки суставов, прогрессирующей деструкцией хрящевой и костной ткани [Насонов Е.Л., 2019]

Цепов Л.М., Николаев А.И.. К вопросу об этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний пародонта // Пародонтология, 2020. – №2. – С.9-13.

Ревматология: клинические рекомендации / под ред. Е.Л. Насонова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 448 с.



ВЗАИМОСВЯЗЬ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА И РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

- Рядом авторов установлено, что у пациентов с пародонтитом риск развития РА был на **69% выше**, чем у лиц без данной патологии [Qiao Y., Wang Z., Li Y., 2020]
- Провоспалительное состояние, отмечаемое при пародонтите, считается **пусковым механизмом ревматоидного артрита** [Thilagar S., Theyagarajan R., Mugri M.H. et al. 2022]
- Наличие очагов хронической инфекции в пародонте (***P. gingivalis***) способствует развитию и прогрессированию РА [Li Y. et al., 2022]

- Общие факторы РА и хронического пародонтита:
- активная фаза воспаления, с высвобождением нескольких медиаторов, которые являются **общими для обоих состояний**, включая интерлейкин 1-бета и простагландин E2
- **Коллагеназа** обнаруживается не только в синовиальной жидкости у пациентов с РА, но также в **содержимом десневых карманов**
- Активность РА при заболевании коррелирует с **сывороточными уровнями IL-6, TNF альфа и CRP**, что **влияет на глубину пародонтальных карманов** при РА у пациентов с умеренной или высокой активностью заболевания

Qiao Y., Wang Z., Li Y., Han Y., Zhou Y., Cao X. Rheumatoid arthritis risk in periodontitis patients: a systematic review and meta-analysis // Joint Bone Spine. – 2020. – N 87. –P.556–564.

doi: 10.1016/j.jbspin.2020.04.024

Kaczyński T., Wroński J., Głuszko P. et al. Salivary Interleukin 6, Interleukin 8, Interleukin 17A, and Tumour Necrosis Factor α Levels in Patients with Periodontitis and Rheumatoid Arthritis.

Central European Journal of Immunology. 2019. no 44. pp. 269–276.

Li Y., Guo R., Oduro P.K., Sun T., Chen H., Yi Y. The relationship between Porphyromonas gingivalis and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. Frontiers and Cellular Infection

Microbiology. 2022. vol. 12

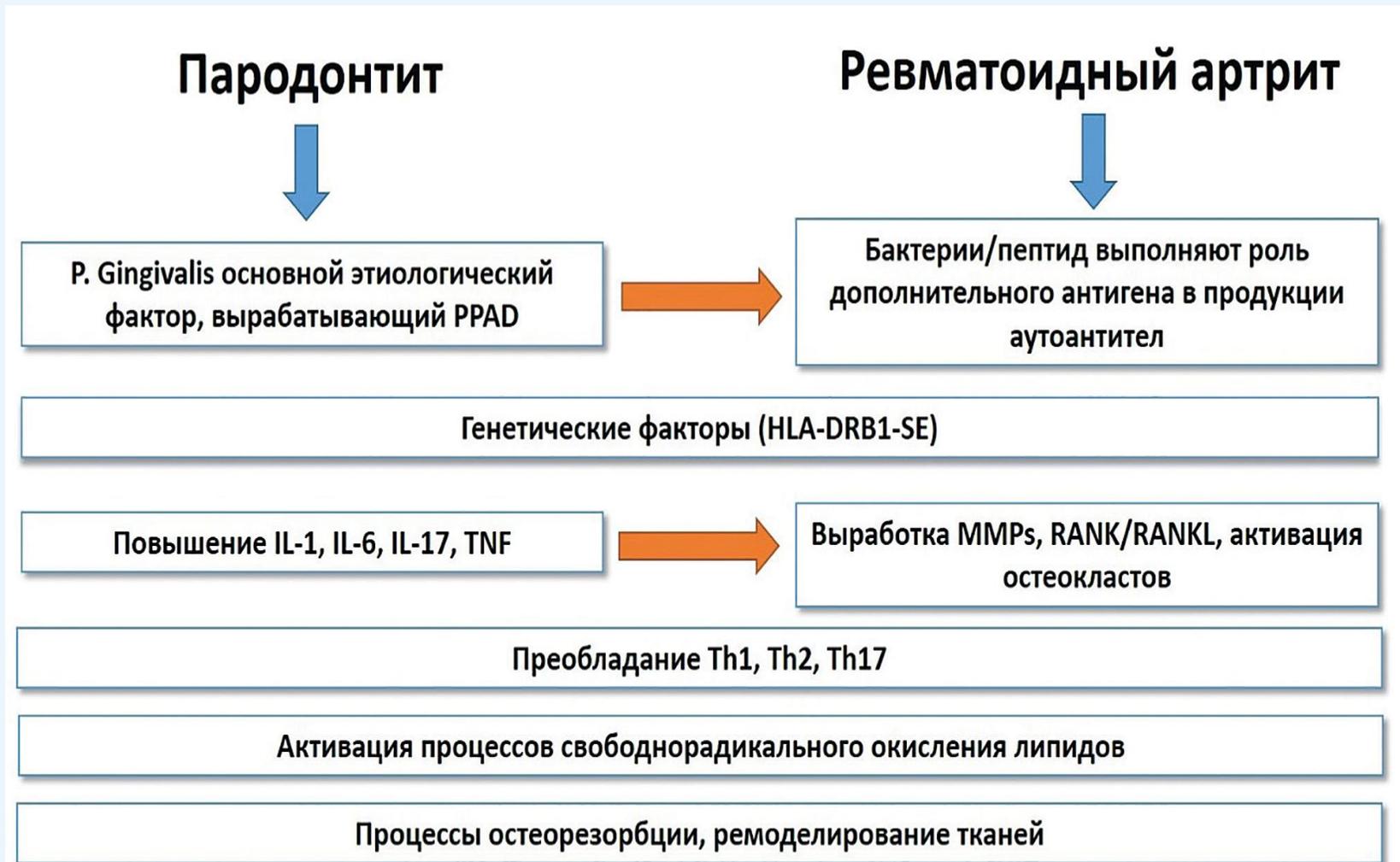
РОЛЬ *P. gingivalis* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* В ПАТОГЕНЕЗЕ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

- **Феномен цитруллинирования белков** организма является одним из ключевых и фундаментальных **механизмов в патогенезе ревматоидного артрита**, а определение антител к подобным белкам (АЦБ) является высокочувствительным и высокоспецифичным диагностическим маркером РА.
- ***P. gingivalis* продуцирует фермент пептидиларгинин-деаминазу (ПАД), который отвечает за цитруллинирование различных аутоантигенов.**
- Согласно одной из гипотез, потеря толерантности к цитруллинированным антигенам с последующим **образованием антител к цитруллинированным белкам** может запускаться в пародонте под действием *P. gingivalis*.
- ***Aggregatibacter actinomycetemcomitans* увеличивает количество цитруллинированных белков**, при помощи выработки «лейкотоксина А», который разрушает нейтрофилы,

Горбачев А. В., Салушко Е. А., Савушкина Н. М. Дисбаланс верхних отделов пищеварительного тракта — предвестник ревматоидного артрита? // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2019. — №163(3). — С. 10–15. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-163-3-10-15

Li Y., Guo R., Oduro P.K., Sun T., Chen H., Yi Y. The relationship between *Porphyromonas gingivalis* and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Frontiers and Cellular Infection Microbiology*. 2022. vol. 12

Konig MF, Abusleme L, Reinholdt J, Palmer RJ, Teles RP, Sampson K, Rosen A, Nigrovic PA, Sokolove J, Giles JT, Moutsopoulos NM, Andrade F. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-induced hypercitrullination links periodontal infection to autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med*. 2016 Dec 14;8(369):369ra176.



Примечания. PPAD — пептидил-аргинин дезаминаза; Th1 — Т-хелпер 1 типа; Th2 — Т-хелпер 2 типа; Th17 — Т-хелпер 17 типа; IL-1 — интерлейкин-1; IL-6 — интерлейкин-6; TNF — фактор некроза опухоли; IL-17 — интерлейкин-17; RANK-L — активатор мембраносвязанного рецептора ядерного фактора каппа-β; MMP — матриксные металлопротеиназы

5 Основные факторы формирования хронического генерализованного пародонтита и ревматоидного артрита

de Molon R.S., Rossa C., Thurlings Jr. R.M. et al., Linkage of periodontitis and rheumatoid arthritis: current evidence and potential biological interactions International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 18. – No. 20. – P. 4541-4586.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

**ИССЛЕДОВАТЬ КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ
ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ
АРТРИТОМ И ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ
ПАРОДОНТИТОМ.**

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Группа

20 пациентов в возрасте 35-65 лет с диагнозом ревматоидный артрит и хронический генерализованный пародонтит, получающие противоревматическое лечение

- 20 анкет пациентов для сбора *anamnesis morbi* и *anamnesis vitae*

ГРУППА ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

Критерии включения пациентов в исследование

- Критерии включения пациентов в исследование: добровольное информированное согласие пациента;
- возраст 35-65 лет;
- больные ревматоидным артритом, страдающие хроническим пародонтитом, получающие противоревматическое лечение в течение 1-3 лет, у которых диагноз был верифицирован по стандартным клиническим, биохимическим, иммунологическим и инструментальным показателям специалистом-ревматологом.

Критерии исключения пациентов из исследования

- добровольный отказ от участия в исследовании на любом этапе;
- несоблюдение пациентом регламента исследования;
- возраст менее 35 и более 60 лет;
- наличие ВИЧ-инфекции, первичных иммунодефицитов;
- приобретение пациентом хронических соматических в стадии суб и декомпенсации, специфических инфекционных заболеваний в период исследования;
- онкологические заболевания любой стадии;
- декомпенсированный сахарный диабет;
- установление факта беременности;
- невыполнение рекомендаций врача;
- неявка на контрольные осмотры.
- отсутствие хронического генерализованного пародонтита;
- наличие менее 10 зубов во рту

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методы обследования

Клинические (анализ состояния зубочелюстной системы пациентов)

- основные методы исследования зубов (осмотр, зондирование, перкуссия)
- оценка гигиены полости рта индекс Грина – Вермиллиона (OHIS)
- оценка состояния пародонта
- метод Шиллера-Писарева
- витального окрашивания,
- индекс РМА (Massler M., Shoykhet I., 1947; Parma C., 1960)

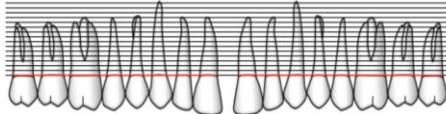
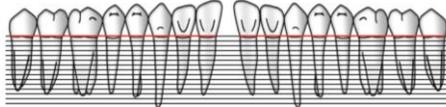
Лучевые методы диагностики

- ортопантомография
- конусно-лучевая компьютерная томография челюстей

Пародонтальная карта Дата

Фамилия Имя Дата рождения

Первичное обследование Контрольное обследование Врач

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Подвижность	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Импакт																
Фурункул																
Кровоточивость при зондировании																
Зубная отслойка																
Дисковый край	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Глубина зондирования	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Вестибулярно																
Орально																
Дисковый край	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Глубина зондирования	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Зубная отслойка																
Кровоточивость при зондировании																
Фурункул																
Примечания																



Методы обследования

Социологические

Опрос-анкетирование пациентов для сбора anamnes morbi и anamnes vitae

1.	Болели ли Вы вирусным гепатитом?	Д А	Н ЕТ
	Если да, то какого типа « » и когда		
2.	Болели ли Вы туберкулезом?	Д А	Н ЕТ
3.	Были ли у Вас язвы в полости рта?	Д А	Н ЕТ
4.	Была ли у Вас длительная необъяснимая лихорадка?	Д А	Н ЕТ
5.	Были ли у Вас длительные боли в горле и затрудненное глотание?	Д А	Н ЕТ
6.	Имеете ли Вы постоянно увеличенные лимфатические узлы?	Д А	Н ЕТ

Лабораторные

Молекулярно-генетический скрининг микрофлоры пародонтальных карманов выполнен методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в лаборатории молекулярной диагностики НИИ антимикробной химиотерапии

России.

СПЕКТР ИДЕНТИФИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ

Porphyromonas endodontalis
Porphyromonas gingivalis
Aggregatibacter actinomycetemcomitans
Treponema denticola
Fusobacterium nucleatum

Prevotella intermedia
Tannerella forsythia



МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР ИССЛЕДОВАНИЯ

- Исследование проводилось в лаборатории молекулярной диагностики **НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ)** в соответствии со стандартными методиками
- Использовались комплекты реагентов **«РИБО-преп» (ООО «Некст-Био», Россия)**
- **«ДЕНТОСКРИН»[®] (ООО НПФ «Литех», Россия)**
- для выделения РНК/ДНК из клинического материала и последующего анализа методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Статистические методы исследования

Характер распределения данных анализировался с использованием W -критерия Шапиро-Уилка. Выборочные характеристики количественных величин представлены в виде $\text{Mean} \pm m$ (средней \pm стандартная ошибка средней), номинальных с расчетом абсолютных и относительных величин. построение доверительного интервала 95% ДИ по формуле для долей и частот методом Вальда, для малых значений – методом Вальда с коррекцией по Агрести-Коуллу, для количественной оценки связи между двумя переменными использовали коэффициент корреляции Пирсона.

Достоверность различия изучаемых признаков по критерию Краскела-Уоллиса; статистическая значимость при вероятности $>95\%$ ($p < 0,05$); проведение статистического анализа результатов в Microsoft Excel 16 с использованием надстройки «Анализ данных» и пакет Statistica 10.0 (StatSoft Inc., 2011)

- ❖ Взятие клинического материала осуществляли непосредственно из пародонтального кармана
- ❖ В день взятия биологического материала обследуемым было рекомендовано воздержаться от полоскания полости рта лекарственными средствами и чистки зубов



Содержимое пародонтального кармана отбирали **стерильным** бумажными конусными эндодонтическими абсорбентами Absorbent Paper Points (META BIOMED) размера № 25, который вводили пинцетом в пародонтальный карман в наиболее глубокие участки **на 15 секунд** и затем сразу помещали в стерильную пластиковую пробирку типа Eppendorf (1,5 мл) с транспортной средой и плотно закрывали крышкой

Пробирки помечали **инициалами пациента, идентификационным номером, указывали дату, время забора и название исследования**

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Средний возраст обследованных составил $48,9 \pm 2,4$ (min=35 лет, max=60 лет)
- из них было 30% (6/20) мужчин и 70% (14/20) женщин.
- 17 пациентов в течение 1 – 3 лет находились на базисной терапии
- 3 больных получали генно-инженерные препараты

ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫЙ ПАРОДОНТИТ СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ, МНОЖЕСТВЕННЫЕ ФАСЕТКИ ИСТИРАНИЯ НА ЗУБАХ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ



**ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ГИГИЕНЫ РТА У ПАЦИЕНТОВ
С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ**

Значения показателей зубного налета	уровень гигиены	Группа пациентов с ревматоидным артритом	
		Абс.	Отн. .(%)
0,0-0,6	хороший	2	12,5
0,7-1,8	удовлетворительный	9	56,3
1,9-3,0	плохой	7	43,8

ТАБЛИЦА 2. СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИНДЕКСОВ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Стоматологические индексы	Среднее значение*	Минимум показателя	Максимум показателя	Медиана**
РМА	10,6±2,6	0	37	11 [0; 16]%
ОHI-S	1,6±0,2	0,3	2,6	1,6 [0,9; 2,3]

Примечание. *Среднее значение: среднее значение ± стандартная ошибка средней, **медиана: медиана и интерквартильный размах (25-й и 75-й процентиля),

**ПАЦИЕНТ Б., 55 ЛЕТ, РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ.
ОТЕК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДЕСНЫ, ПРОБА ШИЛЛЕРА-
ПИСАРЕВА ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ, ИНДЕКС ОНИС – 2,4; РМА – 12 %**



ТАБЛИЦА 3. ОЦЕНОЧНЫЕ КРИТЕРИИ ИНДЕКСА РМА У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Оценочные критерии индекса РМА:	Группа пациентов с ревматоидным артритом	
	Абс.	Отн.(%)
0% - отсутствует	7	38,9
30% и менее — легкая степень тяжести гингивита	10	55,6
31—60 % — средняя степень тяжести	1	5,6
61% и выше— тяжелая степень	0	0,0

**ТАБЛИЦА 4. ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ В
ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНАХ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ
АРТРИТОМ**

Описательная статистика Микроорганизм	Количество микроорганизмов (результат) GE/ml	
	Минимум показателя	Максимум показателя
Fusobacterium nucleatum	3280	16000000
Porphyromonas gingivalis	13	150000000
Porphyromonas endodontalis	652	59000000
Prevotella intermedia	358	12000000
Treponema denticola	2510	848000

ТАБЛИЦА 5. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ПАРОДОНТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ В ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНАХ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Количество пациентов	Абс., n	Отн., %
Микроорганизм		
Fusobacterium nucleatum	19	95%
Treponema denticola	10	50%
Prevotella intermedia	6	30%
Porphyromonas gingivalis	9	45%
Porphyromonas endodontalis	11	55%
Aggregatibacter actinomycetemcomitans	-	-
Tannerella forsythia	17	85%

ТАБЛИЦА 6. АССОЦИАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНАХ ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Ассоциация из микроорганизмов	Группа пациентов с ревматоидным артритом		
	Абс.	Отн. (%)	ДИ
отсутствуют	0	0,0	0,0-0,0
1 вид	3	15,0	0,6-30,6
2 вида	2	10,0	0,1-23,1
3 вида	3	15,0	0,6-30,6
4 вида	4	20,0	2,5-37,5
5 видов	5	25,0	6,0-44,0
6 видов	3	15,0	0,6-30,6

- При проверке корреляционных связей между уровнем гигиены и количеством выявленных патогенных микроорганизмов установлена **умеренная прямая связь** между значением индекса **ОHI-S** и количеством *Fusobacterium nucleatum* $r=0,38$ ($p<0,05$).
- При проверке корреляционных связей между степенью воспаления десны и количеством выявленных патогенных микроорганизмов **не установлена связь** между значением индекса **РМА** и количеством пародонтопатогенных микроорганизмов.

ВЫВОДЫ

1. По частоте выявления микроорганизмов в пародонтальных карманах: на первом месте: *Fusobacterium nucleatum* (95% пациентов), на втором месте: *Tanerella forsythia* (85%), на третьем месте: *Porphyromonas endodontalis* (55%) и *Porphyromonas gingivalis* (45%).
2. У 20% пациентов с ревматоидным артритом в пародонтальных карманах встречались 4, у 25% - 5 ассоциаций пародонтопатогенных микроорганизмов.
3. Отсутствие выраженного воспаления тканей десны у пациентов с ревматоидным артритом мы связываем с воздействием лекарственной противоревматической терапии.
4. При проверке корреляционных связей между уровнем гигиены и количеством выявленных патогенных микроорганизмов установлена умеренная прямая связь между значением индекса ОНI-S и количеством *Fusobacterium nucleatum* $r=0,38$ ($p<0,05$).





**БЛАГОДАРЮ ЗА
ВНИМАНИЕ!**

ТЮРИН СЕРГЕЙ

E-MAIL: TYURIN.SERGEY15@GMAIL.COM