

Результаты комплексной пародонтальной терапии с применением комбинации бактериофага и пробиотического препарата

А.С. Галиева, Н.В. Давидович, А.С. Оправин, Е.Н. Башилова, К.Р. Рюмин, Т.А. Бажукова

Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Воспалительные заболевания пародонта являются хронической персистирующей инфекцией, инициируемой дисбиотическими сдвигами микробного сообщества. Высокая распространенность, многофакторность и сложность лечения заболеваний пародонта способствуют постоянному совершенствованию подходов к лечению.

Цель исследования: клинико-лабораторное обоснование применения комбинации бактериофага и пробиотического препарата в алгоритме комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита.

Материалы и методы. Проведено клинико-лабораторное исследование с последующим комплексным лечением 100 больных в возрасте от 18 до 45 лет с воспалительными заболеваниями пародонта. Пациенты были разделены на группы в зависимости от тактики лечения: традиционное лечение (клинические рекомендации) в первой группе и лечение с последовательным применением бактериофага (81 фаг против *A. actinomycetemcomitans*, *B. licheniformis*, *B. fragilis*, *E. cloacae*, *E. faecalis*, *K. pneumonia*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *Wolinella spp.* и др.) и пробиотика, содержащего штамм *S. Salivarius*, во второй. Материалом для исследования являлись смывы, полученные из пародонтального кармана. Маркерные пародонтопатогены выделяли методом ПЦР в режиме реального времени, провоспалительные цитокины определяли методом иммуноферментного анализа. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета программ STATA v.12.

Результаты. После проведенного комплексного лечения с применением комбинации бактериофага и пробиотического препарата зафиксирована положительная динамика изучаемых индексов, а также тенденция к снижению количества пародонтопатогенной микрофлоры. Содержание пародонтопатогенных бактерий в исследуемом материале снизилось: *P. gingivalis* – в 5,2 раза ($p < 0,001$); *P. intermedia* – в 3,6 раз ($p < 0,001$); *T. forsythia* – в 3,8 раза ($p = 0,905$); *T. denticola* – в 4 раза ($p < 0,001$); уровень IL1- β снизился в 4,29 ($p < 0,001$) и в 8,59 раза ($p = 0,02$) соответственно подгруппам по степени тяжести; уровень IL6 также снизился в 4,39 раза ($p < 0,001$) и в 5,94 раза ($p = 0,0002$). По окончании лечения был зафиксирован самый низкий уровень TNF- α (2,13 в подгруппе ХГП с легкой степенью тяжести и 2,11 в подгруппе со средней степенью тяжести ($p < 0,001$; $p = 0,0005$)).

Заключение. Комплексное лечение выбранными препаратами позволило достичь высокого терапевтического эффекта при лечении хронического генерализованного пародонтита, исключая применение антибактериальных препаратов системного действия, а также добиться продолжительной ремиссии путем элиминации пародонтопатогенной микрофлоры у лиц с хроническим пародонтитом. Этиопатогенетическая направленность терапии является перспективной парадигмой лечения воспалительных заболеваний пародонта.

Ключевые слова: пародонтит, пародонтопатогены, цитокины, бактериофаги, *Streptococcus salivarius* K12.

Для цитирования: Галиева АС, Давидович НВ, Оправин АС, Башилова ЕН, Рюмин КР, Бажукова ТА. Результаты комплексной пародонтальной терапии с применением комбинации бактериофага и пробиотического препарата. *Пародонтология*. 2024;29(1):92-101. <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2024-821>.

The efficacy of bacteriophage/probiotic combination therapy in periodontal treatment

A.S. Galieva, N.V. Davidovich, A.S. Opravin, E.N. Bashilova, K.R. Ryumin, T.A. Bazhukova

Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

ABSTRACT

Relevance. Periodontal inflammations result from chronic, persistent infections triggered by dysbiosis-induced shifts within the microbial community. The high prevalence, multifactorial nature and challenging management of periodontal disease create an environment ripe for ongoing advancements in treatment modalities.

Study objective: To validate, using clinical and laboratory test data, the efficacy of combined treatment involving bacteriophages and probiotics in managing chronic periodontitis.

Materials and methods. A total of 100 patients aged 18 to 45 with periodontal inflammation underwent clinical laboratory examinations before receiving combination treatment. The patients were divided into two groups: Group 1 received conventional treatment based on clinical recommendations, while Group 2 received sequential treatment with a bacteriophage cocktail (targeting 81 phages against *A. actinomycetemcomitans*, *B. licheniformis*, *B. fragilis*, *E. cloacae*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *Wolinella spp.* among others) followed by a probiotic containing *S. Salivarius*. Periodontal pocket lavages served as study material. Periodontal pathogens were isolated using real-time PCR, and proinflammatory cytokines were identified via enzyme immunoassay. Statistical analysis was conducted using STATA v.12 software.

Results. Following bacteriophage/probiotic combination treatment, positive changes in study indices and a reduction in periodontopathogenic microbiota were observed. Significant decreases were noted in the levels of key periodontal pathogens: *P. gingivalis* (5.2-fold decrease, $p < 0.001$), *P. intermedia* (3.6-fold decrease, $p < 0.001$; *T. forsythia* (3.8-fold decrease, $p = 0.905$), *T. denticola* 4-fold decrease, $p < 0.001$. Levels of IL1- β decreased by factors of 4.29 ($p < 0.001$) and 8.59 ($p = 0.02$) in severity subgroups, while IL6 levels decreased by factors of 4.39 ($p < 0.001$) and 5.94 ($p = 0.0002$). The lowest TNF- α levels (2.13 in mild CGP subgroup and 2.11 in moderate CGP subgroup) were observed post-treatment ($p < 0.001$; $p = 0.0005$).

Conclusion. The combination treatment involving the selected drugs exhibited notable therapeutic effectiveness in the management of chronic periodontitis. This approach not only avoided the necessity for systemic antibacterial agents but also facilitated prolonged remission by eradicating periodontopathogenic microbiota in patients with chronic periodontitis. The etiopathogenetic nature of this treatment represents a promising paradigm in the management of periodontal inflammation.

Keywords: periodontitis, periodontal pathogens, cytokines, bacteriophages, *Streptococcus salivarius K12*.

For citation: Galieva AS, Davidovich NV, Opravin AS, Bashilova EN, Ryumin KR, Bazhukova TA. The efficacy of bacteriophage/probiotic combination therapy in periodontal treatment. *Parodontologiya*. 2024;29(1):92-101 (in Russ.). <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2024-821>.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Хронический пародонтит – мультифакториальное заболевание, в основе которого лежат комплексные взаимодействия между сдвигами иммунного реагирования и изменениями биопленки, приводящими к персистирующему воспалительному процессу и потере зубодесневого прикрепления [1, 2].

В опубликованном Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) «Докладе о состоянии здоровья полости рта в мире», основанном на статистических данных по 194 странам, показано, что примерно 19% населения, более 1 миллиарда человек, могут страдать тяжелой степенью пародонтита [3].

Сдвиг парадигмы лечения воспалительных заболеваний пародонта обоснован высокой распространенностью и многогранностью этиопатогенеза данной патологии и направлен в сторону экологического и микробиологического подхода. Это диктует необходимость постоянного поиска новых медикаментов, а также усовершенствования форм лекарственных препаратов с уже доказанной эффективностью [4].

Возможной альтернативой стандартизированным подходам может служить применение препаратов на основе вирулентных бактериофагов, использование которых приводит к положительной динамике развития заболевания. Каждый вид бактериофагов активен только в отношении определенного вида бактерий и нейтрален в отношении других. Это позволяет применять их как эффективное и безопасное антибактериальное средство профилактики и

терапии. Так, известно применение геля с бактериофагами, в состав которого входит 81 штамм бактериофагов. Они подавляют рост 24 пародонтопатогенов, наиболее часто встречающихся при воспалении органов и тканей рта и обеспечивают элиминацию пародонтопатогенной анаэробной грамотрицательной микробиоты из пародонтальных карманов [5-7].

Для коррекции микробиоценоза полости рта за счет усиления колонизационной резистентности применяются пробиотические препараты, содержащие штамм *Streptococcus salivarius K12*, который является грамположительным (Грам(+)) бактериальным комменсалом. Действие данного штамма происходит за счет колонизации ротовой полости, а также синтеза рибосомами антимикробных пептидов – саливарицина А и В, которые обладают ингибирующим действием в отношении многих оральных патогенов, в том числе *S. pyogenes*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* и *P. intermedia*, что было продемонстрировано с помощью микробиологического исследования различных авторов [8].

Несмотря на то что микробы, расположенные в биопленке, кажутся относительно невосприимчивыми к действию большинства химиотерапевтических средств, есть данные, что некоторые бактериоцины могут быть эффективны при лечении биопленок, особенно когда они используются в комбинации с другими агентами, которые, как известно, действуют как стрессоры для клеточных оболочек бактериальных клеток. Саливарицин А2 нарушает синтез клеточной мембраны патогенных микроорганизмов

и тормозит репликацию их ДНК, обладая бактериостатическим действием. Саливарицин Б разрушает клеточные структуры бактерий, тем самым обеспечивая бактерицидное действие [8, 9].

Кроме того, данный препарат способствует восстановлению нормальной микробиоты рта, ослабленной персистирующим инфекционным процессом, приемом антибиотиков и другими факторами, тем самым способствуя развитию колонизационной резистентности. Безопасность *S. salivarius* для человека установлена (GRAS-статус), однако эффективность SsK12 в качестве препарата выбора при лечении болезней пародонта, не достаточно изучена и основывается на результатах немногочисленного ряда исследований [9].

Цель исследования

Клинико-лабораторное обоснование применения комбинации бактериофага и пробиотического препарата в алгоритме комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено стоматологическое обследование с дальнейшим комплексным лечением 100 больных с подтвержденным диагнозом хронический генерализованный пародонтит (ХГП). Дизайн исследования – рандомизированное клиническое испытание. От каждого пациента было получено информированное добровольное согласие. Работа проведена в соответствии с международным этическим и научным стандартом планирования и проведения исследований (GCP) и по методике, рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения. Исследование одобрено этическим комитетом (протокол №08/11 от 28.11.2018 г.) ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет».

Критериями включения в исследование являлись: согласие на участие в исследовании (ИДС); возраст 18-45 лет; подтвержденный диагноз по МКБ-10 K05.3 «хронический генерализованный пародонтит (ХГП) легкой и средней степени тяжести»; удовлетворительная гигиена полости рта. Критериями не-включения в исследование стали: отказ от участия в исследовании; возраст до 18 лет и старше 45 лет. Критериями исключения из исследования стали другие воспалительные заболевания в полости рта, беременность, послеродовой период, невозможность проведения всех планируемых исследований, прием антибактериальных препаратов в течение последних 6 месяцев.

Обследованные были независимо разделены на группы: 1-я группа – лечение согласно утвержденным клиническим рекомендациям (протоколам лечения) (n = 30); 2-я группа – предложенный способ лечения с последовательным применением выбранных препаратов (n = 70).

До начала лечения всем лицам, включенным в исследование, было проведено клиническое стоматологическое обследование, включая индексы РМА, ОН-С, Muhlemann-Saxer, рентгенологическое исследование (ортопантомография), индекс Фукса. Степень тяжести пародонтита устанавливали на основании глубины пародонтальных карманов (ПК) и степени деструкции костной ткани.

Предметом молекулярно-генетического исследования являлась десневая жидкость пародонтального кармана для определения шести ДНК-маркеров пародонтопатогенов *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* и *Candida albicans* методом РТ-ПЦР и 3 провоспалительных цитокинов 1-бета (IL-1β), интерлейкин 6 (IL-6) и фактор некроза опухоли альфа (TNF-α) с помощью иммуноферментного анализа в одномоментно размороженных пробах.

Для оценки эффективности выбранных способов лечения дополнительно был использован индекс эффективности Улитовского, рассчитываемый по формуле: Индекс эффективности (%) = 100*[РМА (1)-РМА (2)]/РМА (1), где РМА(1) – индекс РМА до лечения, РМА (2) – после лечения.

Пациентам обеих групп проведена профессиональная гигиена рта, с индикацией и последующим тщательным снятием всех зубных отложений, кюретаж при необходимости, индивидуальное гигиеническое обучение с контролируемой чисткой зубов. Пациентам контрольной группы было назначено лечение согласно клиническим рекомендациям (протоколам лечения) «Пародонтит», включая местное противомикробное и противовоспалительное (хлоргексидин + метронидазол («МетрогилДента»)), а также антигистаминное («Зиртек») лечение по показаниям [10]. В основной группе последовательно применяли бактериофаг и пробиотический препарат. В качестве препарата противомикробного действия выбран гель с бактериофагом, в состав которого входит стерильная суспензия фаговых частиц в физиологическом растворе (81 фаг, специфичный в отношении следующих патогенных бактерий: *A. actinomycetemcomitans*, *B. licheniformis*, *B. fragilis*, *E. cloacae*, *E. faecalis*, *K. pneumonia*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *Wolnella spp.* и др.) вода, карбопол и экстракт календулы. Пробиотический препарат, в своем составе содержал штамм *Streptococcus salivarius K12* и вспомогательные вещества (фруктоза, мальтодекстрин, диоксид кремния аморфный, магниевая соль стеариновой кислоты, ароматизатор натуральный «Клубника»).

Пациентам основной группы назначали курс аппликаций гелем с бактериофагами два раза в день по 2 минуты после индивидуальной гигиены полости рта, курс применения составил 21 день. Далее назначали пробиотический препарат в виде одной жевательной таблетки в день перед сном курсом 1 месяц.

Статистическая обработка полученных результатов, оценка распределения показателей, сравни-

тельный анализ выборок проведен с помощью пакета программ для статистической обработки данных STATA v.12 (Stata Corp, TX, США). Категориальные переменные представлены в виде абсолютных чисел (n) и долей (%). Количественные данные выявления пародонтопатогенных бактерий представлены в виде десятичного логарифма. Для определения различий между средними значениями применяли методы непараметрической статистики: критерий Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса. Проведен логистический регрессионный анализ и корреляционный анализ Спирмена. Критический уровень статистической значимости составил $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение исходных данных клинического исследования пародонта не выявило существенных различий между сравниваемыми группами (табл. 1). Анализ изучаемых индексов при разделении общей выборки изучаемых групп по степени тяжести заболевания показал, что исследуемые показатели до лечения практически не зависели от степени тяжести ХГП. Индивидуальная гигиена полости рта (ОНИ-S) до начала лечения у всех пациентов с патологией пародонта являлась неудовлетворительной: 2,5 [2; 3] в 1-й группе и 2,05 [2; 2,9] во 2-й группе. После проведенного комплекса лечебных мероприятий в 1-й группе индекс ОНИ-S снизился в 1,6 раза с 2,5 до 1,5, а во 2-й группе после применения препарата геля с бактериофагами регистрировалось достоверно значимое снижение показателя в 2,5 раза ($p = 0,0004$). После применения пробиотического препарата значение индекса ОНИ-S не изменилось. Вероятно, это связано с угнетением формирования микробных сообществ, вследствие фаг-ассоциированного лизиса [11].

Сравнительный анализ показателей индекса РМА выявил снижение в обеих группах. Так, в 1-й группе индекс уменьшился в 3,8 раза, во 2-й группе после применения бактериофагов – в 4,6 раза, и в 6,95 раза после применения пробиотика ($p < 0,001$). Изменение индекса РМА в подгруппах по степеням тяжести не выявил статистически значимых различий.

Индекс кровоточивости Muhlemann-Saxer (ИК) в 1-й группе снизился в 1,2 раза, во 2-й группе после применения геля с бактериофагами в 1,7 раза и в 2,5 раза по завершению курса лечения с пробиотиком ($p < 0,001$). При проведении анализа в зависимости от степени тяжести ХГП выявлено, что в 1-й группе у лиц с легкой степенью тяжести ХГП, ИК после лечения составил 1 [1; 2], а во 2-й группе – 0 [0; 1] ($p < 0,001$). У лиц со средней степенью тяжести ХГП средние показатели ИК в 1-й группе составили 1 [1; 2], а во 2-й группе – 1 [0; 1] ($p = 0,005$).

Индекс оценки эффективности выбранных способов лечения Улитовского в 1-й группе составил 73,9%, а после лечения гелем на основе бактериофагов – 78,4%. Комплексное лечение с последовательным применением предложенных препаратов позволяет достигнуть эффективности 85,6%.

В результате микробиологического исследования установлено, что спектр и количество пародонтопатогенных микроорганизмов в пародонтальном кармане до лечения в группах не отличалось (в подгруппе с легкой степенью тяжести $p = 0,623$, в подгруппе со средней степенью тяжести $p = 0,923$). Общая бактериальная масса до лечения в 1-й группе составила 5,95 [5,5; 6,9] lg КОЕ/мл и 6,1 [5,5; 7,2] lg КОЕ/мл во 2-й группе ($p = 0,540$). На рисунке 1 представлена динамика изменения количественного состава основных пародонтопатогенов в исследуемых группах.

На фоне проводимого лечения во всех группах отмечена тенденция к снижению пародонтопатоген-

Таблица 1. Результаты индексной оценки на этапах лечения в исследуемых группах

Table 1. Assessment of indices in study groups at each treatment stage

Индекс Index	До лечения / Before treatment		p-уровень p-value	После лечения / After treatment			p-уровень p-value
	Группа 1 (традиционное лечение) Group 1 (conventional treatment)	Группа 2 Group 2		Группа 1 (традиционное лечение) Group 1 (conventional treatment)	Группа 2 Group 2		
					Бактериофаг Bacteriophage	SSk12	
РМА	69 [62; 78]	69,5 [61; 76]	p = 0,654	18 [15; 20]	15 [10; 15]	10 [5; 15]	p < 0,0001
ОНИ-S	2,5[2; 3]	2,05 [2; 2,9]	p = 0,329	1,5 [1; 1,8]	1 [1; 1,3]	1 [1; 1,3]	p = 0,0004
Muhlemann-Saxer	2,5 [2; 3]	2 [2; 3]	p = 0,767	1 [1; 2]	1 [0; 1]	0 [0; 1]	p < 0,0001
Степень подвиж- ности зубов Tooth mobility	1 [1; 1,7]	1 [0,75; 1]	p = 0,0006	0,81 [0; 1,5]	0,77 [0,5; 0,9]	0,5 [0; 0,6]	p = 0,146
Индекс Фукса Fuchs Index	0,75 [0,7; 0,8]	0,75 [0,7; 0,8]	p = 0,806	0,8 [0,8; 0,83]	0,85 [0,8; 0,9]	0,85 [0,8; 0,9]	p = 0,005

p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна – Уитни / The Mann-Whitney test was used to calculate the p-value

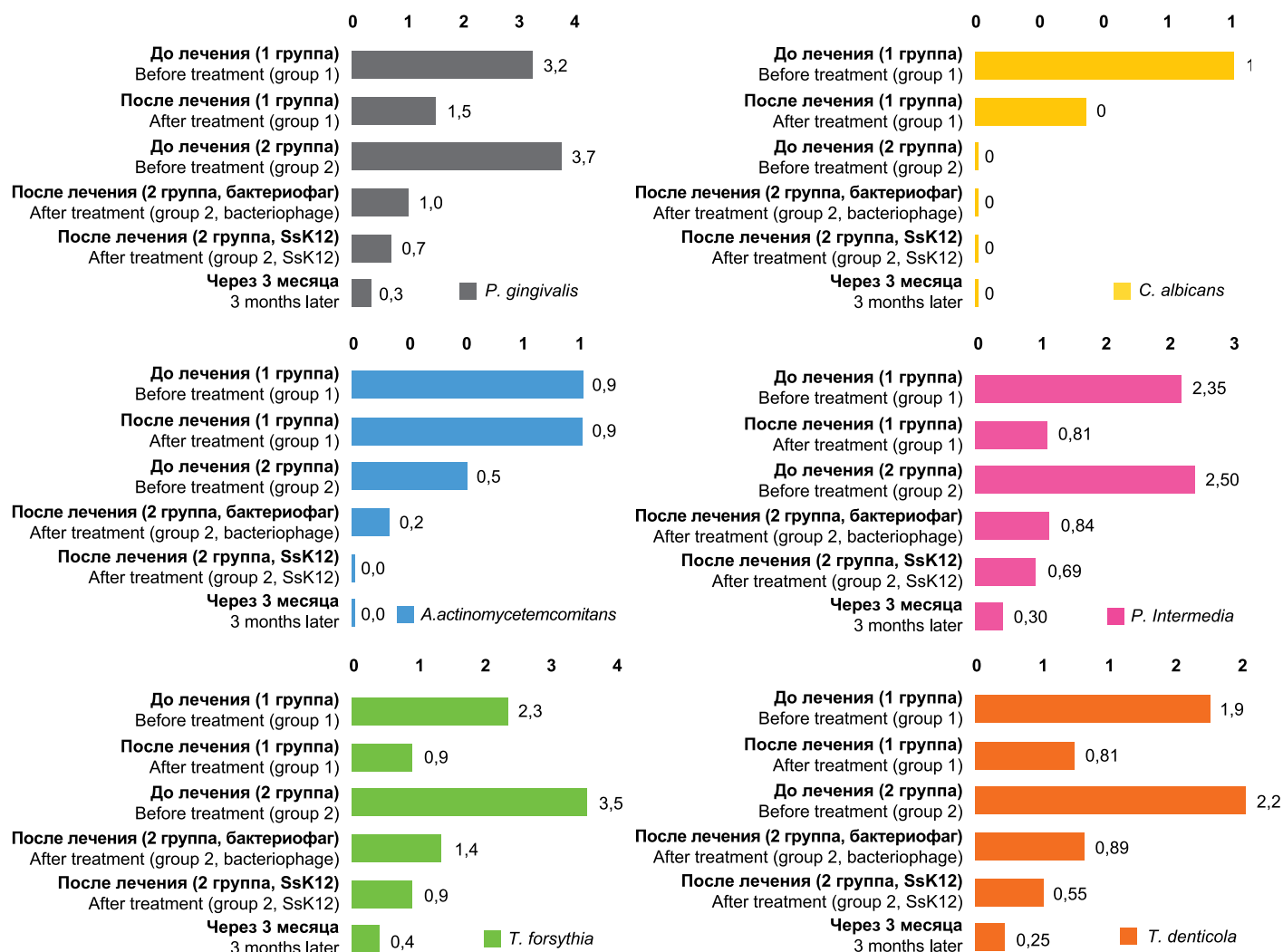


Рис. 1. Изменение содержания пародонтопатогенов в исследуемых группах до и после лечения (lg КОЕ/мл)
Fig. 1. Changes in periodontal pathogen levels in the study groups before and after treatment (lg CFU/ml)

ной микробиоты (табл. 2). В то же время у 17% пациентов с хроническим пародонтитом 1-й группы после проведенного лечения были выявлены ассоциации пародонтопатогенов 1 порядка: *P. gingivalis* + *T. forsythia*, *P. gingivalis* + *P. intermedia*, *P. gingivalis* + *T. forsythia* + *A. actinomycetemcomitans*. В 1-й группе количественное содержание пародонтопатогенов снизилось в среднем в 2 раза. Генетические маркеры основных пародонтопатогенов снизились после лечения с применением геля с бактериофагами в среднем в 2,9 раза (табл. 2), но при этом следует отметить наличие пародонтопатогенов *T. forsythia* – 1,4 [1,1; 1,7], *P. intermedia* – 0,84 [0,82; 0,87], *P. gingivalis* – 1 [1; 1,3].

При анализе колонизации пародонтального кармана пародонтопатогенами с помощью критерия Краскала—Уоллиса выявлены существенные прямые корреляции в отношении индекса РМА для *P. gingivalis* ($H = 36,2$; $p = 0,0005$; $df = 13$) и *P. intermedia* ($H = 38,6$; $p = 0,0002$; $df = 13$), а также ИК: *P. gingivalis* ($H = 17,2$; $p = 0,0002$; $df = 2$) и *P. intermedia* ($H = 22,8$; $p = 0,0001$; $df = 2$). Наличие ассоциации *P. gingiva-*

lis + *P. intermedia* коррелировало с показаниями ИК ($H = 4,05$, $p = 0,0066$, $df = 2$). Таким образом, можно отметить, что в большей степени с проявлениями воспалительно-деструктивных процессов в тканях пародонта ассоциированы с *P. gingivalis*, а также ее комбинация с *P. intermedia*. Более того, *P. gingivalis* можно охарактеризовать как ключевой патоген, который поддерживает и формирует микробное сообщество способами, которые также способствуют патогенезу заболевания [10].

Установленные ассоциации трех пародонтопатогенов после проведенного первого этапа лечения выявили положительные прямые корреляции слабой и средней силы с уровнями IL1-бета ($rs = 0,285$, $p = 0,0041$) и IL-6 ($rs = 0,385$, $p = 0,0001$), что позволяет предположить, что решающим фактором в стимулировании высвобождения провоспалительных интерлейкинов играет именно коагрегация микробов «красного комплекса». Возможно, при разрушении клеточной стенки Гр(-) бактерий происходит выброс эндотоксинов, в том числе липополисахарида (LPS), длительная персистенция которого приводит к со-

Таблица 2. Результаты молекулярно-генетического исследования количественного содержания пародонтопатогенов в пародонтальном кармане у сравниваемых групп (lg КОЕ/мл)
Table 2. Molecular-genetical assay findings of periodontal pathogens levels in the periodontal pocket in the parallel groups (lg CFU/ml) for conventional treatment

Пародонто- патогены Periodontal pathogens	До лечения / Before treatment		p-уровень p-value	После лечения / After treatment			p-уровень p-value
	Группа 1 (традиционное лечение) Group 1 (conventional treatment)	Группа 2 Group 2		Группа 1 (традиционное лечение) Group 1 (conventional treatment)	Группа 2 Group 2		
					Бактериофаг Bacteriophage	SSk12	
<i>A. actinomyce- temcomitans</i>	0,9 [0; 1,4]	0,45 [0; 2,3]	p = 0,782	0,9 [0; 1,3]	0,15 [0; 1]	0	p ₁ = 0,376 p ₂ < 0,001
<i>P. gingivalis</i>	3,2 [2,7; 4]	3,7 [2,9; 4,2]	p = 0,028	1,5 [1; 1,8]	1 [1; 1,3]	0,7 [0,5; 1,0]	p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
<i>T. forsythia</i>	2,35 [2; 3,7]	3,5 [2,1; 4,1]	p = 0,115	1,7 [0,7; 2,1]	1,4 [1,1; 1,7]	0,9[0,5;1,1]	p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,905
<i>T. denticola</i>	1,9 [1,3; 2,8]	2,2 [1,9; 2,8]	p = 0,091	0,81 [0; 1,5]	0,89 [0; 1]	0,55 [0; 1]	p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
<i>P. intermedia</i>	2,35 [1,7; 2,7]	2,5 [1,9; 2,9]	p = 0,743	0,81 [0,8; 0,83]	0,84 [0,82; 0,87]	0,69 [0,66; 0,82]	p ₁ = 0,824 p ₂ < 0,001
<i>C. albicans</i>	0,7[0; 1]	0 [0; 1]	p = 0,408	0,3 [0; 1]	0 [0; 1]	0 [0; 1]	p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

p-уровень рассчитывался с помощью критерия Манна – Уитни; данные представлены в виде десятичного логарифма;
 p₁ – сравнение результатов лечения группы 1 и группы 2 после применения геля с бактериофагами,
 p₂ – сравнение результатов лечения группы 1 и группы 2 после применения пробиотического препарата
 the p-value is based on the Mann-Whitney test; data are presented as natural logarithm values;
 p₁ – a comparison of treatment outcomes between Group1 and 2 following the administration of the bacteriophage-containing gel,
 p₂ – a comparison of treatment outcomes between Group 1 and 2 after administer-ing the probiotic

хранению синтеза медиаторов воспаления на высоком уровне. После проведенного второго этапа лечения с применением *Streptococcus salivarius* K12 во 2-й исследуемой группе содержание пародонтопатогенных бактерий в исследуемом материале существенно снизилось и составило: *P. gingivalis* – 0,7 [0,5; 1,0], p < 0,001; *P. intermedia* – 0,69 [0,66; 0,82], p < 0,001; *T. forsythia* – 0,9 [0,5; 1,1], p = 0,905 (табл. 2).

Анализ количества пародонтопатогенов в содержимом пародонтального кармана во 2-й группе после применения *Streptococcus salivarius* K12 прямо пропорционально коррелировал с уровнями исследуемых цитокинов. Так, были выявлены корреляции средней силы между уровнем *P. gingivalis* и IL-1 (rs = 0,589, p < 0,0001), IL-6 (rs = 0,501, p < 0,0001) и TNF-α (rs = 0,423, p < 0,0001), а также между *P. intermedia* и IL1-β (rs = 0,442, p < 0,0001), IL-6 (rs = 0,372, p = 0,0001) и TNF-α (rs = 0,302, p = 0,0022 β). Результаты молекулярно-генетического анализа через 3 месяца после окончания лечения идентифицировали низкое содержание пародонтопатогенов во 2-й подгруппе. Так, абсолютное количество *A. actinomycetemcomitans* было 0 [0;1], *P. gingivalis* 0,3 [0;0,5], *T. forsythia* 0,4 [0;0,75], *T. denticola* 0,25 [0;0,37], *P. intermedia* 0,3 [0;0,54] и *C. albicans* – 0 [0;1]. В 1-й под-

группе количественный состав микроорганизмов представлен следующим образом: *A. actinomycetemcomitans* было 0,7 [0,5; 1], *P. gingivalis* 2 [1,7; 2,4], *T. forsythia* 1,7 [1,3; 2,2], *T. denticola* 1,4 [1; 1,9], *P. intermedia* 1,7 [1,2; 2,4] и *C. albicans* – 0,65 [0; 1].

Оценка исходного уровня провоспалительных цитокинов до лечения во всех исследуемых группах не показала статистически значимой разницы. Содержание IL6 после проведенного лечения в 1-й группе снизилось в 1,51 раза в группе ХГП легкой степени тяжести и в 2,01 раза в группе с ХГП средней степени тяжести. Во 2-й группе после применения бактериофага уровень IL6 снизился в 1.81 раз (p = 0,041) и в 3,46 раз (p = 0,001) в подгруппах по степеням тяжести соответственно, после применения *Streptococcus salivarius* K12 уменьшился в 4,39 раза (p < 0,001) и в 5,94 раз (p = 0,0002).

Содержание исследуемого провоспалительно-го цитокина IL1-β до проводимого лечения в подгруппе ХГП легкой степени был 21,45 [16,20; 40,89] и 61,18 [26,14; 95,24] в подгруппе с ХГП средней степени тяжести. В результате проведенного лечения уровень IL1-бета снизился в 1-й группе в 1,69 раза в подгруппе с ХГП легкой степени тяжести и в 4,33 раза в группе с ХГП средней степени тяжести. Во 2-й

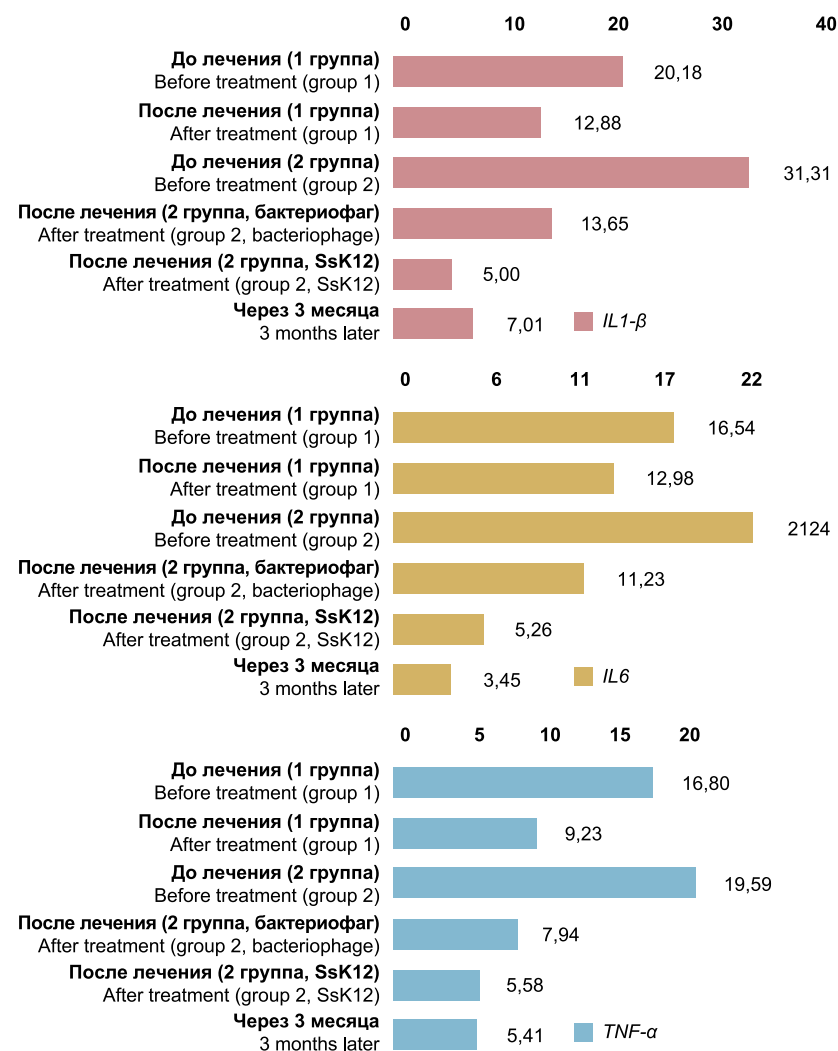


Рис. 2.

Результаты уровней медиаторов воспаления в группах на этапах лечения хронического генерализованного пародонтита

Fig. 2.

Results of assaying inflammation mediator levels in the groups at each stage of chronic periodontitis management

группе после лечения бактериофагом IL1-β снизился в подгруппах в 2,06 раза ($p = 0,08$) и в 5,15 раза ($p = 0,32$), а после применения *Streptococcus salivarius* K12 в 4,29 ($p < 0,001$) и в 8,59 раз ($p = 0,02$) соответственно подгруппам по степени тяжести. Таким образом, несмотря на выраженную адгезию к фибробластам, *S. salivarius* K12 не индуцировал экспрессию генов IL-6 и IL-1.

Определение содержания TNF-α в смывах пародонтального кармана показало, что в результате лечения в 1-й группе показатель снизился в 1,84 раза в группе ХГП легкой степени тяжести и в 2,08 раза в группе с ХГП средней степени тяжести. После применения бактериофага TNF-α был ниже и уменьшился в 2,03 ($p = 0,034$) и 3,79 ($p = 0,0005$) в подгруппах по степеням тяжести соответственно. При этом после комплексного применения выбранных препаратов был зафиксирован самый низкий уровень TNF-α (2,13 в подгруппе ХГП с легкой степенью тяжести и 2,11 в подгруппе со средней степенью тяжести ($p < 0,001$; $p = 0,0005$)) (рис. 2).

Через 3 месяца после завершения лечения результаты иммуноферментного анализа позволили оценить уровни изучаемых медиаторов воспаления. Так, содержание IL1-β в 1-й подгруппе было

16,01 [12,56; 27,34], а во 2-й подгруппе 7,01 [5,7; 9,3]; IL6 был 14,22 [11,35; 21,02] и 3,45 [2,4; 6,3]; TNF-α 14,59 [11,72; 18] и 5,41 [3,12; 7,9], соответственно исследуемым группам.

Факторный анализ показал, что сочетанное применение выбранных препаратов в 8,34 раза (ДИ 3,16-21,9, $p < 0,001$) повышает вероятность снижения IL1-β, в 10,16 раза (ДИ 3,69-27,95, $p < 0,001$) снижения IL6 и в 21 раз (ДИ 5,73-76,8, $p < 0,001$) снижения TNF-α в отделяемом пародонтального кармана. Таким образом, значимое снижение провоспалительных цитокинов было зафиксировано именно при последовательном применении бактериофага и пробиотической коррекции, что, вероятно, обусловлено первичным антимикробным потенциалом фага и ростом стабилизирующей микробиоты в результате применения пробиотика.

Применение геля с бактериофагами в большей степени способствовало снижению исследуемых индексов, кровоточивости десен, благодаря направленному антибиотическому действию в отношении основных пародонтопатогенных бактерий. Механизм действия бактериофагов основан на способности фагов путем диффузии проникать в слизистую оболочку и прикрепляться к поверхности бактериаль-

ных клеток, после чего фаговый вирион проникает в клетку и блокирует синтез белка [11].

Применение пробиотического препарата позволило усилить эффект терапевтического лечения, что выразилось в достоверном снижении пародонтопатогенной микробиоты (табл. 2). *Streptococcus salivarius* K12 обладает высокой способностью к адгезии к тканям рта, модулирует микробиом, обладая ингибирующим действием на пародонтопатогены, во многом за счет выработки бактериоцинов, помогая обеспечить штаммы *S. salivarius* экологическим преимуществом в бактериальном сообществе. *S. salivarius* быстро достигает численного превосходства и конкурирует за сайты адгезии, что играет важную роль в поддержании сбалансированной экосистемы макроорганизма [12]. Применение комплекса предложенных препаратов позволило достичь устойчивой ремиссии заболевания спустя три месяца после лечения.

Также стоит отметить, что в течение всего периода наблюдения ни у одного из пациентов не было выявлено побочных проявлений на применение выбранных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Relvas M, Silvestre R, Gonçalves M, Cabral C, Mendes-Frias A, Monteiro L, et al. Analysis of Salivary Levels of IL-1 β , IL17A, OPG and RANK-L in Periodontitis Using the 2017 Classification of Periodontal Diseases – An Exploratory Observational Study. *Journal of Clinical Medicine*. 2023;12(3):1003.
doi: 10.3390/jcm12031003
2. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021;71(6):462-476.
doi: 10.1111/idj.12630
3. Jain N, Dutt U, Radenkov I, Jain S. WHO's global oral health status report 2022: Actions, discussion and implementation. *Oral Dis*. 2023.
doi: 10.1111/odi.14516
4. Saha S, Tomaro-Duchesneau C, Tabrizian M, Prakash S. Probiotics as oral health biotherapeutics. *Expert Opin Biol Ther*. 2012;12(9):1207-1220.
doi: 10.1517/14712598.2012.693474
5. Саркисян НГ, Катаева НН, Тузанкина ИА, Меликян СГ, Зурочка ВА, Зурочка АВ. Оценка эффективности спрея на основе синтетического пептида в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита. *Инфекция и иммунитет*. 2019;9(3-4):549-558. Режим доступа:
<https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-effektivnosti-spreya-na-osnove-sinteticheskogo-peptida-v-kompleksnom-lechenii-hronicheskogo-generalizovannogo-parodontita>
6. Губайдуллин АГ, Туйгунов ММ. Сравнительный анализ литического действия собственного бактериофага и поливалентного биологического препарата"

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выбранный метод лечения с последовательным применением бактериофага и пробиотического препарата, которые обладают выраженным бактерицидным и противовоспалительным действием, позволяет достичь высокого терапевтического эффекта в лечении воспалительных заболеваний пародонта без использования антибактериальных препаратов и добиться продолжительной ремиссии путем восстановления базового состава микробиоты десневой борозды.

Высокая эффективность применения комбинации бактериофага и пробиотического препарата при лечении хронического генерализованного пародонтита связана с уменьшением численности пародонтопатогенов (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* и *T. denticola*) и снижением иммунного воспаления (IL1- β , IL6 и TNF- α) в тканях пародонта, что подтверждено стабильностью достигнутых результатов в долгосрочном исследовании, по истечении трех месяцев.

ФАГОДЕНТ". *Инфекция и иммунитет*. 2017;(S):918-918. Режим доступа:

<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35380428&ysslid=ls01eevgrd256181165>

7. Волков ЕА, Никитин ВВ, Пашкова ГС, Исаджанян КЕ, Попова ВМ, Жиленьков ЕЛ. Использование средства на основе бактериофагов в комплексном лечении инфекционно-воспалительных заболеваний пародонта. *Российский стоматологический журнал*. 2013;(5):17-23. Режим доступа:

<https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-sredstva-na-osnove-bakteriofagov-v-kompleksnom-lechenii-infektsionno-vozpалitelnyh-zabolevaniy-parodontita>

8. MacDonald KW, Chanyi RM, Macklaim JM, Cadieux PA, Reid G, Burton JP. Streptococcus salivarius inhibits immune activation by periodontal disease pathogens. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):245
doi: 10.1186/s12903-021-01606-z

9. Burton JP, Cowley S, Simon RR, McKinney J, Wescombe PA, Tagg JR. Evaluation of safety and human tolerance of the oral probiotic Streptococcus salivarius K12: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Food Chem Toxicol*. 2011;49(9):2356-2364.
doi: 10.1016/j.fct.2011.06.038

10. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskandari MA, et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe*. 2011;10(5):497-506.
doi: 10.1016/j.chom.2011.10.006

11. Лукичев ММ, Ермолаева ЛА. Использование бактериофагов и пробиотиков в комплексном лече-

нии воспалительных заболеваний пародонта. *Институт стоматологии*. 2018;(1):84-87. Режим доступа:

<https://instom.spb.ru/catalog/article/12006/?ysclid=ls02b92mxa742698337>

REFERENCES

1. Relvas M, Silvestre R, Gonçalves M, Cabral C, Mendes-Frias A, Monteiro L, et al. Analysis of Salivary Levels of IL-1 β , IL17A, OPG and RANK-L in Periodontitis Using the 2017 Classification of Periodontal Diseases – An Exploratory Observational Study. *Journal of Clinical Medicine*. 2023;12(3):1003.
doi: 10.3390/jcm12031003
2. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021;71(6):462-476.
doi: 10.1111/idj.12630
3. Jain N, Dutt U, Radenkov I, Jain S. WHO's global oral health status report 2022: Actions, discussion and implementation. *Oral Dis*. 2023
doi: 10.1111/odi.14516
4. Saha S, Tomaro-Duchesneau C, Tabrizian M, Prakash S. Probiotics as oral health biotherapeutics. *Expert Opin Biol Ther*. 2012;12(9):1207-1220.
doi: 10.1517/14712598.2012.693474
5. Sarkisyan NG, Kataeva NN, Tuzankina IA, Melikyan SG, Zurochka VA, Zurochka AV. Evaluation of the effectiveness of a synthetic peptide-based spray in the complex treatment of chronic generalized periodontitis. *Russian journal of infection and immunity*. 2019; 9(3-4):549-558 (In Russ.). Available from:
<https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-effektivnosti-spreya-na-osnove-sinteticheskogo-peptida-v-kompleksnom-lechenii-hronicheskogo-generalizovannogo-parodontita> (accessed: 06/29/2023)
6. Gubaidullin AG, Tuigunov MM. Comparative analysis of the lytic action of own bacteriophage and polyvalent biological preparation "PHAGODENT". *Russian journal of infection and immunity*. 2017;(S):918-918 (In Russ.). Available from:
<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35380428&ysclid=ls01eevgrd256181165>
7. Volkov EA, Nikitin VV, Pashkova GS, Isadzhanyan KE, Popova VM, Zhilenkov EL. The use of bacteriophages-based gel in complex treatment of periodontal infectious and inflammation diseases. *Russian Journal of Dentistry*. 2013;(5):17-23 (In Russ.). Available from:
<https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-sredstva-na-osnove-bakteriofagov-v-kompleksnom-lechenii-infektsionno-vospalitelnyh-zabolevaniy-parodonta>
8. MacDonald KW, Chanyi RM, Macklaim JM, Cadieux PA, Reid G, Burton JP. Streptococcus salivarius inhibits immune activation by periodontal disease pathogens. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):245.
doi: 10.1186/s12903-021-01606-z
9. Burton JP, Cowley S, Simon RR, McKinney J, Wescombe PA, Tagg JR. Evaluation of safety and human tolerance of the oral probiotic Streptococcus salivarius K12: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Food Chem Toxicol*. 2011;49(9):2356-2364.
doi: 10.1016/j.fct.2011.06.038
10. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskandari MA, et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe*. 2011;10(5):497-506.
doi: 10.1016/j.chom.2011.10.006
11. Lukichev MM, Ermolaeva LA. The use of bacteriophages and probiotics in the complex treatment of inflammatory periodontal diseases. *The Dental Institute*. 2018;(1):84-87 (In Russ.). Available from:
<https://instom.spb.ru/catalog/article/12006/?ysclid=ls02b92mxa742698337>
12. Burton JP, Wescombe PA, Cadieux PA, Tagg JR. Beneficial microbes for the oral cavity: time to harness the oral streptococci? *Benef Microbes*. 2011;2(2):93-101.
doi: 10.3920/BM2011.0002

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за связь с редакцией:

Галиева Александра Сергеевна, ассистент кафедры терапевтической стоматологии, Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Российская Федерация

Для переписки: alexgalieva@yandex.ru

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7037-7730>;

Давидович Наталия Валерьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики Северного государственного медицинского универ-

ситета, Архангельск, Российская Федерация

Для переписки: nvdauidovich@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6414-9870>

Оправин Александр Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Российская Федерация

Для переписки: opravinas@nsmu.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0057-3357>

Башилова Елена Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Российская Федерация

Для переписки: ebashilova@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9247-6633>

Рюмин Константин Романович, студент 5 курса стоматологического факультета Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Российская Федерация

Для переписки: riumin.kon16@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2147-4303>

Бажукова Татьяна Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Российская Федерация

Для переписки: tbazhukova@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7890-2341>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Corresponding author:

Alexandra S. Galieva, DMD, Assistant Professor, Department of the Operative Dentistry, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

For correspondence: alexgalieva@yandex.ru

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7037-7730>

Natalia V. Davidovich, MD, PhD, Associate Professor, Department of the Clinical Biochemistry, Microbiology and Laboratory Diagnostics, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

For correspondence: nv davidovich@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6414-9870>

Alexander S. Opravin, DMD, PhD, DSC, Professor, Head of the Department of Restorative Dentistry, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

For correspondence: opravinas@nsmu.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0057-3357>

Elena N. Bashilova, MD, PhD, Associate Professor, Department of the Histology, Cytology, Embryology, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

For correspondence: ebashilova@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9247-6633>

Konstantin R. Riumin, 5th year student, Dental School, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

For correspondence: riumin.kon16@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2147-4303>

Tatyana A. Bazhukova, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Biochemistry, Microbiology and Laboratory Diagnostics Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

For correspondence: tbazhukova@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7890-2341>

Конфликт интересов:

Авторы декларируют отсутствие

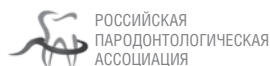
конфликта интересов / Conflict of interests:

The authors declare no conflict of interests

Поступила / Article received 19.07.2023

Поступила после рецензирования / Revised 14.11.2023

Принята к публикации / Accepted 12.01.2023



ЖУРНАЛЫ ИЗДАТЕЛЬСКОЙ ГРУППЫ РПА

Журнал «Пародонтология»

Стоимость подписки в печатном виде на 2023 год по России – 2700 рублей

Подписной индекс в каталоге «Урал-Пресс» – ВН018550

Электронная версия в открытом доступе

www.parodont.ru

PubMed NLM ID: 101535619

Импакт-фактор: 1.8