

## АНОТАЦІЯ

*Кравченко А.В.* Попередження ускладнень на етапі хірургічного лікування і реабілітації генералізованого пародонтиту, асоційованого із персистуючою герпесвірусною інфекцією – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 221 Стоматологія. – Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, МОЗ України, Київ, 2021.

### **Зміст анотації**

Дисертаційна робота присвячена пошуку вирішення однієї із актуальних проблем сучасної стоматології – профілактиці виникнення ускладнень у вигляді маніфестних проявів герпесвірусної інфекції у порожнині рота пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом II ступеня важкості, асоційованим із персистуючою герпесвірусною інфекцією шляхом розробки і застосування нових схем медикаментозного лікування при проведенні закритого кюретажу.

**Метою роботи** є підвищення ефективності лікування хронічного генералізованого пародонтиту II ступеня важкості, асоційованого з хронічною персистуючою герпесвірусною інфекцією, шляхом удосконалення діагностики, лікування та профілактики виникнення ускладнень у вигляді маніфестних проявів герпесвірусної інфекції у порожнині рота пацієнтів на етапі хірургічного лікування і реабілітації із застосуванням власно розроблених, науково обгрунтованих медикаментозних схем.

### **Завдання дослідження:**

1. Визначити частоту виявлення моно- та асоційованих форм вірусів сімейства *Herpesviridae* (ВПГ1,2; ЦМВ; ВЕБ) у тканинах пародонта пацієнтів із хронічним генералізованим герпесасоційованим пародонтитом II ступеня важкості та дослідити клініко-лабораторні особливості перебігу захворювання у залежності від їх моно- та асоційованих форм.

2. Визначити стан місцевого та загального імунітету у осіб із хронічним генералізованим пародонтитом II ступеня важкості, асоційованим із персистуючою герпесвірусною інфекцією.

3. Розробити медикаментозну схему терапії і профілактики виникнення ускладнень у вигляді маніфестних проявів герпесвірусної інфекції у порожнині рота пацієнтів на етапі хірургічного лікування і реабілітації з урахуванням асоційованої герпесвірусної інфекції.

4. Провести клініко-лабораторну оцінку запропонованої медикаментозної схеми у осіб із хронічним генералізованим пародонтитом II ступеня важкості, асоційованим із персистуючою герпесвірусною інфекцією та порівняти її ефективність із традиційними схемою медикаментозної терапії.

5. Впровадити в практичну діяльність розроблену медикаментозну схему терапії і профілактики виникнення ускладнень у вигляді маніфестних проявів герпесвірусної інфекції у порожнині рота пацієнтів на етапі хірургічного лікування і реабілітації з метою подальшого уникнення рецидивів ГВІ.

Дослідження виконувалось відповідно до принципів належної клінічної практики із дотриманням сучасних принципів біоетики та доказової медицини та з увагою до вимог конфіденційності. Робота є фрагментом НДР «Клініко-лабораторне обґрунтування застосування сучасних медичних технологій в комплексному лікуванні та реабілітації основних стоматологічних захворювань» номер державної реєстрації 0117U006451.

На підставі поглибленого вивчення зрушень деяких ланок клітинного та гуморального імунітету, динаміки біохімічних маркерів запалення тканин пародонта була проведена порівняльна оцінка ефективності запропонованих і традиційних схем медикаментозного лікування пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом II ступеня важкості без супутньої герпесвірусної інфекції та пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом II ступеня важкості, асоційованим із персистуючою герпесвірусною інфекцією.

На першому етапі дослідження проводилося опрацювання та ретроспективний аналіз 174 амбулаторних карт пацієнтів, яким проводилось

хірургічне лікування II ступеня ГП у віці від 35 до 60 років у вигляді закритого і відкритого кюретажу у ділянці чотирьох зубів.

На другому етапі дослідження для визначення особливостей клінічного перебігу хронічного генералізованого пародонтиту II ступеня важкості у осіб, включених у дослідження було проведено комплексне клініко-рентгенологічне обстеження за загальноприйнятою схемою згідно «Протоколів надання медичної допомоги зі спеціальності «Стоматологія терапевтична», МОЗ України» (2007). Отримані дані заносили до спеціально розробленої індивідуальної карти пацієнта.

У дослідження було включено 139 пацієнтів із ХГП II ступеня тяжкості (за класифікацією захворювань пародонта М.Ф.Данилевського 1994), глибина пародонтальних кишень у яких не перевищувала 4,2 мм. із розподіленням на групи в залежності від наявності або відсутності в анамнезі персистуючої герпесвірусної інфекції. До I групи (групи порівняння) увійшла 61 особа із ХГП II ступеня без ознак і наявності в анамнезі герпесвірусної інфекції. До II (основної) групи увійшло 78 осіб у яких була діагностована персистуюча ГВІ (ВПГ-1,2, ВЕБ, ЦМВ). В залежності від використаних схем медикаментозного лікування кожна із груп, і основна, і група порівняння були розділені на дві підгрупи А і В. Додатково було залучено 20 осіб із інтактним пародонтом і без ознак захворювань слизової оболонки порожнини рота, які звернулись до клініки для лікування неускладненого карієсу.

Використовуючи міждисциплінарний підхід, перед початком лікування для кожного хворого був складений план комплексного лікування ХГП II ступеня тяжкості, з урахуванням подальшої участі стоматологів суміжних спеціальностей. Консервативне лікування починали із санації ротової порожнини, видалення зубів за показаннями, шинування рухомих зубів, та детального інструктажу по гігієні ротової порожнини з підбором індивідуальних гігієнічних засобів. У перше відвідування усім пацієнтам проводився скейлінг і полірування поверхонь зубів і коренів на верхній і нижній щелепах згідно загальноприйнятих правил.

На цьому етапі дослідження проводились біохімічні та імунологічні

дослідження ротової рідини пацієнтів, включених до дослідження із визначенням її кількісного складу і вмісту в ній гістаміну, серотоніну та sIgA; сироватки крові з метою оцінки деяких показників клітинного і гуморального імунітету та наявності і титрів антитіл класу IgG та IgM до ВПГ1,2, ЦМВ та ВЕБ у сироватці крові пацієнтів із ХГП II ступеня, асоційованим із персистуючою герпесвірусною інфекцією.

Закритий кюретаж проводився пацієнтам із ХГП II ступеня тяжкості за загальноприйнятою методикою. Після втручання проводилось імунологічне дослідження грануляційних тканин, вилучених під час проведення закритого кюретажу.

Вивчення місцевого гуморального та клітинного імунітету тканин пародонта проводилося шляхом дослідження вмісту цитокінів та субпопуляцій Т-лімфоцитів у вилучених грануляційних тканинах пародонта у пацієнтів основної (II) групи та групи порівняння (I).

Наступний етап був присвячений дослідженню ефективності схем медикаментозного лікування хронічного генералізованого пародонтиту II ступеня у осіб, не обтяжених супутньою герпесвірусною інфекцією. Також проводилась порівняльна оцінка ефективності запропонованої схеми у найближчі та віддалені терміни після проведення закритого кюретажу з метою вибору групи порівняння для оцінки ефективності схем лікування, запропонованих для пацієнтів із ХГП II ступеня, асоційованого із хронічною персистуючою герпесвірусною інфекцією.

З метою оцінки ефективності запропонованих схем лікування і попередження можливості утворення антибіотикорезистентних штамів пародонтальної флори було проведено порівняння співставності стандартної схеми медикаментозної терапії (Схема1), яка застосовується для медикаментозного супроводу закритого кюретажу і схеми медикаментозного лікування, що не передбачала місцевого застосування антибіотиків (Схема 2). Для цього пацієнти групи порівняння (61 особа), у яких не спостерігалось персистенції ГВІ, порівняння були розділені на дві підгрупи А (30 осіб) і В (31 особа). Тривалість клінічного спостереження становила 1 рік із контрольними

точками обстежень: 3 доба, 7 доба, 90 доба після втручання, 6 та 12 місяців.

Ретельний аналіз динаміки гігієнічних і пародонтологічних індексів, показників кількісного стану ясенної рідини та вмісту в ній гістаміну і серотоніну, показників клітинного та гуморального імунітету пацієнтів підгрупи А і підгрупи В показав, що значення аналогічних показників у обох підгрупах при порівнянні не мали статистично значущої різниці протягом усього терміну спостереження. У пацієнтів І групи відмічався незначний приріст значень гігієнічних та пародонтологічних показників у порівнянні із показниками на 90 добу після проведеного закритого кюретажу ( $p > 0,001$ ).

Викликає цікавість те, що у через 6 місяців у підгрупі А, яка була пролікована за Схемою 1, яка включала в себе місцеве застосування антибіотиків більшість індексів мали статистично значущий приріст відносно аналогічних значень на 90 добу після закритого кюретажу ( $p < 0,001$ ). На нашу думку, це свідчить про те, що у порожнині рота таких пацієнтів з'явилися антибіотикорезистентні штами пародонтопатогенної мікрофлори, яка може викликати і підтримувати запальний процес у тканинах пародонта.

У підгрупі В, яка була пролікована за Схемою 2, навпаки, індексна динаміка була більш позитивною і значення переважної кількості показників не мали статистично значущої різниці із показниками на 90 добу після закритого кюретажу ( $p > 0,05$ ).

Пацієнтам обох підгруп І групи була проведена професійна гігієна ротової порожнини та надані рекомендації відносно гігієнічного догляду за ротовою порожниною.

Через 1 рік динаміка гігієнічних та пародонтологічних індексів майже не відрізнялась від показників, що мали місце при огляді пацієнтів через 6 місяців. Приріст значень показників у обох підгрупах не мав статистично значущої різниці ( $p > 0,05$ ). Для проведення повторної процедури закритого кюретажу показань не було у жодного пацієнта І групи. Рентгенологічні дослідження пацієнтів обох підгруп І групи показали, що на ортопантомограмах у цих пацієнтів негативних змін у вигляді наростання деструктивних явищ не

спостерігалось.

Отже, порівняльна оцінка ефективності лікування пацієнтів підгрупи А, яке проводилось із застосуванням традиційної схеми медикаментозної терапії із включенням антибіотиків для місцевого застосування Схеми 1 і підгрупи В, для лікування яких була застосована Схема 2 дала змогу свідчити, про співставність цих схем, оскільки результати їх застосування не мали статистично значущої різниці.

На заключному етапі дослідження проводилась порівняльна оцінка ефективності схем медикаментозного лікування пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом II ступеня, асоційованим із персистуючою герпесвірусною інфекцією. В залежності від використаної схеми медикаментозного лікування пацієнти основної (II) групи (78 осіб) були розділені на дві підгрупи: підгрупа АII (41 особа) та підгрупа ВII (37 осіб).

Для підгрупи АII була запропонована Схема 3, яка передбачала застосування розчину фітокомплексу «Джерело-І» перед втручанням комплексно, курсом 21 день. Метою призначення фітокомплексу «Джерело-І» було запобігання виникненню маніфестних проявів герпесвірусної патології у порожнині рота пацієнтів на етапах лікування ХГП середнього ступеня тяжкості. Для підгрупи ВII (37 осіб) була запропонована Схема 2, яка була ефективною для медикаментозного супроводу пацієнтів підгрупи В I групи і не передбачала застосування розчину фітокомплексу «Джерело-І» та місцевого застосування антибіотиків.

Тривалість клінічного спостереження становила 1 рік із контрольними точками обстежень: 3 доба, 7доба, 90 доба після втручання, 6 та 12 місяців.

У разі виникнення ускладнень у вигляді маніфестних проявів герпесвірусної інфекції у найближчий термін після закритого кюретажу цим хворим був призначений інозин пранобекс та 5% лінімент циклоферона місцево 1-2 рази на добу у вигляді аплікацій на місце ураження.

Після проведення ретроспективного аналізу історій хвороби пацієнтів у віці від 35 до 60 років, яким проводилось лікування II ступеня ГП, було виявлено, що 60,34% осіб мали носійство ГВІ. Ці дані були отримані при

попередньому анамнезі і в подальшому підтвержені результатами ПЛР, причому кількість вірусоносіїв переважала у віковій групі 35-45 років. Ускладнення після оперативних втручань у вигляді маніфестних проявів герпесвірусної інфекції у вірусоносіїв становлять 57,89% при проведенні закритого кюретажу і 72, 92% при проведенні відкритого кюретажу. Загоєння післяопераційних ран у пацієнтів із ГВІ також було подовжено у часі за рахунок ускладнення маніфестними проявами герпесвірусної інфекції у проміжках між етапами лікування та очікуванням епітелізації елементів ураження.

Після верифікації діагнозу хронічної асоційованої герпетичної інфекції було встановлено, що легка форма протікання герпесвірусної інфекції у 57,58% хворих у віковій групі 35-45 років; 33,33% хворих у віковій групі 46-55 років; 38,89% - у віковій групі 56-60 років. Середньотяжка форма ГВІ – у 39,39 % пацієнтів, вікової групи 35-45 років – у 55,56 % пацієнтів вікової групи 35-45 років, а у віковій групі 55-60 років – у 61,11 % пацієнтів. Тяжка мала місце тільки у 1 ( 3,03%) пацієнта вікової групи 35-45 років та у 3 (11,11 %) пацієнтів у віковій групі 46-55 років. Тісного кореляційного зв'язку між віком та клінічною формою протікання персистуючої ГВІ у пацієнтів із ХГП II ступеня тяжкості виявлено не було ( $r = 0,3$ ).

При дослідженні сироватки крові на наявність антитіл класу IgG та IgM до ВПГ1,2, ЦМВ та ВЕБ, антитіла класу IgG до ВПГ1,2 в сироватці крові були виявлені у 66 (84,61%) пацієнтів, причому високі титри антитіл (від 1:1600 до 1: 6400) мали місце у 62 (79,5%). Антитіла класу IgG до ЦМВ були виявлені у сироватці крові у 56 (71,79%) хворих, причому титри антитіл були дещо нижчими . Антитіла класу IgG до ВЕБ були виявлені у сироватці крові у 27 (34,61%), але високих титрів не мали. Оскільки пацієнти із ХГП II ступеня на момент дослідження мали період ремісії герпесвірусної інфекції, то антитіла класу IgM до ВПГ1,2, та ЦМВ, що були виявлені під час дослідження сироватки крові високих титрів не мали. До ВЕБ антитіл класу IgM виявлено не було.

Було вивчено 65 зразків грануляційної тканини, вилученої при

проведенні закритого кюретажу у пацієнтів основної групи і пацієнтів групи порівняння на наявність чи відсутність ВПГ1,2 ; ЦМВ та ВЕБ. ГВІ була виявлена у 48 (73,84%) випадках дослідження зразків грануляційної тканини. Вірусної інфекції виявлено не було у 17 (26,15%) зразках.

Моновірусна інфекція була виявлена у 14 (29,17%) зразках, асоційована герпесвірусна інфекція була виявлена у 34 (70,83%) зразках.

У пацієнтів основної групи при моноінфекції, незалежно від типу вірусу (ВПГ 1 та 2 типу, ЦМВ, ВЕБ) і незалежно від титру IgG, було констатовано зниження вмісту CD3+ ,CD4,+CD16+ і CD 22+ , метаболічна активність нейтрофілів за даними спонтанного та індукованого НСТ- тесту, зростання рівня CD8+ ( $p<0,05$ ). Показник імунорегуляторного індексу був нижчим від аналогічного показника пацієнтів із контрольної групи на 34,95% ( $p<0,05$ ) Показники вмісту IgA,IgG та IgM в сироватці крові хворих відповідали значенню по групі. Рівень ЦІК був вірогідно вищим (на 34,97%) за показник у осіб із здоровим пародонтом.

При полівірусній інфекції показники пацієнтів основної групи із низьким рівнем IgG при відсутності IgM в сироватці крові та антигенів вірусів у крові та ротовій рідині відносно рівнів IgA , IgM та IgG становили величини, практично ідентичні середнім по групі. Підвищення вмісту ЦІК у сироватці крові у осіб II групи із полівірусною інфекцією вірогідно перевищувало значення цього показника в групі порівняння ( $p<0,05$ ). Підвищення значень ЦІК в сироватці крові поєднувалися зі зниженням показників НСТ-тесту.

При полівірусній інфекції із високими титрами IgG, наявністю IgM та наявністю антигенів в слині та крові відсотковий вміст CD3+, CD4+, CD16+ і CD22+ лімфоцитів був знижений у порівнянні із показниками контрольної групи ( $p<0,05$ ). Рівень CD8+лімфоцитів перевищував дані по контрольній групі на 43,76% ( $p<0,05$ ). Значення імунорегуляторного індексу було зниженим відносно показника контрольної групи у 2,1 рази ( $p<0,05$ ). Зниження показників НСТ-тесту поєднувалося із вірогідним підвищенням значеннями ЦІК в сироватці крові. Сироватковий рівень IgG зростав до найбільших по групі значень і становив –  $31,18\pm 1,7$  г/л., сироваткова концентрація IgM не



перевищувала середньогрупових значень, вміст IgA вірогідних змін не мав, оскільки не залежав від кількості циркулюючих в крові противірусних антитіл.

Показники клітинного та гуморального імунітету хворих із ХГП II ступеня при персистенції двох або трьох вірусів, не мали статистично значущої різниці між собою ( $p > 0,001$ ).

Після проведення закритого кюретажу у пацієнтів підгрупи АII загоєння поверхні ділянки втручання відбулося через  $5 \pm 1,26$  діб після проведення маніпуляції у пацієнтів підгрупи ВII – через  $6 \pm 2,18$  діб. Ускладнення у вигляді маніфестних проявів герпесвірусної інфекції на слизовій оболонці порожнини рота виникли у 2 (4,88%) пацієнтів підгрупи АII і 11 (29,73%) пацієнтів підгрупи ВII. Таким хворим призначався інозин пранобекс як імуномодулюючий засіб із противірусною активністю.

У найближчі терміни після проведення закритого кюретажу спостерігалась позитивна динаміка показників гігієнічних і пародонтологічних індексів, кількості ясенної рідини і вмісту в ній гістаміну і серотоніну у більшості пацієнтів обох підгруп II групи, хоча показники підгрупи АII перевищували аналогічні показники підгрупи ВII ( $p < 0,05$ ) і не мали статистично значущої різниці із показниками групи порівняння ( $p > 0,05$ ).

Показники клітинного імунітету, в переважній більшості, зросли порівняно із аналогічним показником до лікування ( $p < 0,001$ ), причому приріст значення показників у підгрупі АII у декілька разів перевищував аналогічні значення підгрупи ВII ( $p < 0,05$ ) і за своїми значеннями наближалися до показників групи порівняння. Відсоткова кількість CD 8+, навпаки, помірно знизилась ( $p < 0,001$ ), і склала статистично значущу різницю між підгрупами основної групи ( $p < 0,05$ ). По відношенню до групи порівняння приріст показника підгрупи АII не був статистично значущим ( $p > 0,05$ ), хоча у підгрупі ВII він мав вірогідну різницю ( $p < 0,05$ ).

Оцінка динаміки показників гуморального імунітету вказала на позитивні зрушення у даного контингенту пацієнтів у найближчі терміни після проведення закритого кюретажу. Так показники концентрації sIgA у ротовій рідині вірогідно зросли порівняно із аналогічним показником до початку

лікування у обох підгрупах II групи ( $p < 0,001$ ), причому перевищення значень показника підгрупи АII було статистично значущим по відношенню до підгрупи ВII і до групи порівняння ( $p < 0,05$ ). Показники IgA, IgG та Ig M та ЦК у сироватці крові пацієнтів знизились у обох підгрупах II групи (із переважанням відсотку зниження у підгрупі АII), що склало статистично значущу різницю із аналогічним показником до лікування ( $p < 0,001$ ) і між підгрупами основної групи ( $p < 0,05$ ).

У віддалені терміни після проведення закритого кюретажу у 58 (74,35%) пацієнтів обох підгруп II групи спостерігалась клінічна картина ремісії. Слабко виражені ознаки запального процесу були виявлені у 20 (25,64%) пацієнтів: у 6 (7,69%) із підгрупи АII і у 14 (17,95%) – із підгрупи ВII. Індекс ВОР у таких пацієнтів становив  $24,04 \pm 0,83$  проти  $61,8 \pm 1,92$  до лікування, що складало статистично значущу різницю (61,1%) між показниками ( $p < 0,001$ ).

У пацієнтів обох підгруп II групи відмічався незначний приріст значень гігієнічних та пародонтологічних показників у порівнянні із показниками на 30 добу після проведеного закритого кюретажу.

У підгрупі АII, яка була пролікована за Схемою 3, індексна динаміка була більш позитивною. Деякі показники (ОHI-S; ПК; ВЕП) не мали статистично значущої різниці із аналогічними показниками групи порівняння ( $p > 0,05$ ). Приріст показників РМА, РЕЦ і ЧС вірогідно перевищував значення аналогічних показників групи порівняння на: 15,53%, 5,76% та 10,88% відповідно ( $p < 0,05$ ).

У підгрупі ВII, яка була пролікована за Схемою 2, навпаки, індексна динаміка була менш позитивною і приріст значень переважної кількості показників мав статистично значущу різницю як із показниками на 30 добу після закритого кюретажу ( $p < 0,001$ ), так і з показниками групи порівняння ( $p < 0,05$ ). Статистично значущої різниці між показниками РМА, ВЕП, РЕЦ та ЧС у підгрупі АII і ВII виявлено не було ( $p > 0,05$ ). Між показниками ОHI-S та ПК у підгрупах II групи спостерігалась різниця приросту у 15,97% та 4,49% відповідно.

Протягом цього періоду спостережень у пацієнтів II групи маніфестні прояви ГВІ спостерігались: у підгрупі АII у 6 (14,64%) осіб, із них у 2 (4,88%) із тяжкою формою протікання ГВІ і у 4 (9,76%) – із середньотяжкою; у підгрупі ВII – у 17 (45,95%) осіб, із них у 2 (5,41%) із тяжкою формою протікання ГВІ і у 15 (40,54%) – із середньотяжкою.

Пацієнтам обох підгруп II групи була проведена професійна гігієна ротової порожнини та надані рекомендації відносно гігієнічного догляду за ротовою порожниною. Пацієнтам підгрупи АII додатково було призначено повторний курс фітокомплексу «Джерело-І»

Через 1 рік динаміка пародонтологічних індексів РМА, ПК, ВЕП, РЕЦ та ЧС майже не відрізнялась від аналогічних показників, що мали місце при огляді пацієнтів через 6 місяців. Приріст значень цих показників у обох підгрупах не мав статистично значущої різниці ( $p > 0,05$ ).

Показники кількості ясенної рідини та вмісту гістаміну і серотоніну в ній також помірно зростали у порівнянні із аналогічним показником на 90 добу протягом усього періоду спостережень у обох підгрупах II групи ( $p < 0,001$ ), і мали статистично значущу різницю як між показниками підгруп АII і ВII, так і групи порівняння ( $p < 0,05$ ), хоча по відношенню до аналогічних значень вмісту серотоніну у ясенній рідині пацієнтів II групи до лікування, спостерігалась позитивна динаміка.

Спостерігалось також помірне коливання відсоткового вмісту CD 3+, CD 4+, CD 16+ та CD 22+ із збільшенням через 6 місяців і зменшенням через 1 рік. Коливання значення імунорегуляторного індексу через рік було вірогідним тільки у підгрупі АII ( $p < 0,001$ ). Відмінність значення цих показників як між підгрупами АII і ВII, так і групою порівняння була статистично значущою ( $p < 0,05$ ). Показники НСТ- тесту не мали статистично значущої різниці між підгрупами АII і ВII і групою порівняння через 6 місяців ( $p > 0,05$ ). Проте, через 1 рік відбулося зниження цього показника: у підгрупі АII на 5,52% ( $p < 0,001$ ), у підгрупі ВII – на 5,49% ( $p < 0,001$ ).

Показники sIgA у ротовій рідині через 6 місяців невірогідно зросли ( $p > 0,001$ ), а через 1 рік знизились ( $p > 0,001$ ). У відношенні до групи порівняння

різниця цього показника також не була статистично значущою ( $p > 0,05$ ).

Рівень IgA, IgG та IgM та ЦК у сироватці крові пацієнтів I групи знижувався протягом усього періоду спостереження ( $p < 0,001$ ).

Пацієнти підгрупи АІІ, для медикаментозного лікування яких була запропонована Схема 3, мали менший відсоток скарг та ускладнень у вигляді маніфестних проявів ГВІ у порожнині рота у найближчі терміни після лікування, коротші терміни загоєння поверхні ділянки втручання, ніж пацієнти підгрупи ВІІ, для медикаментозного лікування яких була запропонована Схема 2. Динаміка гігієнічних та пародонтологічних індексів протягом усього періоду спостережень у цій підгрупі була більш позитивною.

Показники кількості ясенної рідини та вмісту в ній гістаміну і серотоніну теж були вірогідно кращими у підгрупі АІІ по відношенню до підгрупи ВІІ і наближались по своїм значенням до показників групи порівняння.

Динаміка показників клітинного і гуморального імунітету у підгрупі АІІ теж виявляла більш позитивні тенденції до нормалізації, ніж у підгрупі ВІІ протягом усього періоду спостережень і не мала статистично значущої різниці із аналогічними показниками групи порівняння.

Провівши порівняльну оцінку ефективності лікування пацієнтів із ХГП II ступеня важкості, асоційованим із персистуючою ГВІ, можна зробити висновок, що Схема 3, яка передбачала застосування розчину фітокомплексу «Джерело-І» перед втручанням комплексно, курсом 21 день і після проведення закритого кюретажу аплікації на уражену ділянку розчину фітокомплексу «Джерело-І» протягом тижня була більш ефективною, ніж Схема 2.

**Ключові слова:** хронічний генералізований пародонтит II ступеня важкості, персистуюча герпесвірусна інфекція, закритий кюретаж, ясенна рідина, клітинний та гуморальний імунітет, моновірусна інфекція, полівірусна інфекція.

## ABSTRACT

*Kravchenko A.V.* Prevention of complications during surgical treatment and rehabilitation of generalized periodontitis associated with persistent herpes virus infection. – Quilifying scientific work as a manuscript.

A thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the field of study 22 Health Care in specialty 221 Dentistry. – Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2021.

### **Content of abstract**

The thesis paper is devoted to the search for a solution to one of the modern dentistry urgent problems, the prevention of complications in the form of clinical manifestations of herpesvirus infection in the oral cavity of patients with chronic generalized periodontitis (CGP) of the II<sup>nd</sup> grade associated with persistent herpesvirus infection

**Aim** – improving of the treatment efficacy for chronic generalized periodontitis of the II<sup>nd</sup> grade associated with chronic persistent herpesvirus infection by improving the diagnosis, treatment and prevention of complications seen as clinical manifestations of herpesvirus infection (HVI) in the oral cavity of patients at the stage of surgical treatment and rehabilitation with the use of science based drug regimens of the own design.

### **Study objectives**

1. To determine the detection frequency of mono- and associated forms of the *Herpesviridae* family viruses (HSV1, 2; CMV; EBV) in the periodontal tissues of patients with chronic generalized herpes-associated periodontitis of II<sup>nd</sup> grade and to investigate the clinical and laboratory features of disease course depending on their mono- and associated forms.
2. To determine the state of local and systemic immunity in persons with CGP of the II<sup>nd</sup> grade associated with persistent herpesvirus infection.

3. To develop a drug therapy regimen and prevention of complications seen as clinical manifestations of herpesvirus infection in the oral cavity of patients at the stage of surgical treatment and rehabilitation, taking into account associated HVI.

4. To perform a clinical laboratory assessment of the proposed drug regimen in patients with CGP of II<sup>nd</sup> grade associated with persistent HVI and to compare its efficacy with traditional drug therapy regimens.

5. To implement the developed drug therapy regimen and prevention of the complications observed as clinical manifestations of the patients' oral HVI, into practice activity at the stage of surgical treatment and rehabilitation in order to further avoid of HVI recurrence.

The studies have been carried out in accordance with Good Clinical Practice requirements in compliance with modern principles of bioethics, evidence-based medicine and confidentiality criteria. The work is a fragment of the R&D "Clinical and laboratory substantiation of the use of modern medical technologies in the complex treatment and rehabilitation of major dental diseases", state registration No. 0117U006451.

A comparative efficacy evaluation of the proposed and traditional drug treatment regimens for II<sup>nd</sup> grade CGP patients without concomitant HVI and patients with same condition associated with persistent HVI was performed on the basis of in-depth study of some cell and humoral immunity shifts and dynamics of the inflammation biochemical markers for periodontal tissues as well.

At the first stage of the study, a processing and retrospective analysis of 174 outpatient records for the patients who received surgical treatment for II<sup>nd</sup> grade generalized periodontitis (GP) at the age of 35 to 60 years in the form of subgingival debridement and open flap debridement (OFD) of the four teeth area.

A comprehensive clinico-radiological examination was carried out according to the generally accepted scheme in accordance with the "Protocols for the medical care provision in the specialty "Therapeutic dentistry", Ministry of Health of Ukraine" (2007) have been performed at the 2<sup>nd</sup> stage of the study in order to determine the characteristics of the clinical course of II<sup>nd</sup> grade CGP in the persons included to the

study. The obtained data were entered into a specially developed individual patient card.

139 patients with II<sup>nd</sup> grade CGP (according to the classification of periodontal diseases by M.F. Danilevsky, 1994) were enrolled to the study, the depth of their periodontal pockets did not exceed 4.2 mm, with the distribution into groups depending on the presence or absence of persistent herpesvirus in the history. Group I (comparison group) consisted of 61 people with II<sup>nd</sup> grade CGP without signs and history of herpesvirus infection. Group II (main) group included 78 people who were diagnosed with persistent CGP (HSV1, 2; CMV; EBV). Depending on the used drug treatment regimens each group has been divided into two subgroups A and B. In addition, 20 people with intact periodontal disease and no signs of diseases of the oral mucosa were recruited, who asked to the clinic for the treatment of uncomplicated caries.

A comprehensive II<sup>nd</sup> grade CGP treatment plan was drawn up for each patient before starting treatment using an interdisciplinary approach taking into account the further participation of trained dentists. Conservative treatment began with oral sanitation, splinting of mobile teeth, tooth extraction according to indications and detailed instructions on the oral hygiene with the selection of individual hygiene products. All patients underwent scaling and polishing of teeth and root surfaces according to generally accepted rules on both jaws at the first visit.

At this stage the biochemical and immunological tests of the oral fluid of study subjects were carried out with its quantitation, and determination of histamine, serotonin and sIgA content; evaluation of some indices of cellular and humoral immunity, the presence and titers of IgG and IgM antibodies to HSV1, 2, CMV and EBV in the blood serum of patients with II<sup>nd</sup> grade CGP associated with persistent HVI.

Subgingival debridement was performed with II<sup>nd</sup> grade CGP patients according to the generally accepted method. After intervention, immunological studies were carried out of granulation tissues removed during the mentioned debridement.

The study of local cell and humoral immunity of periodontal tissues was carried out by investigation of the T-lymphocytes and cytokines subpopulations in the

removed periodontium granulation tissues in patients of the main (II) group and the comparison group (I).

The next stage has been devoted to the study of drug treatment regimens efficacy for II<sup>nd</sup> grade CGP in subjects without concomitant herpesvirus infection. In addition, a comparative assessment of the proposed scheme efficacy in the near and long term after the subgingival debridement was carried out to select a comparison group for evaluation the treatment regimens efficacy proposed for patients with II<sup>nd</sup> grade CGP associated with chronic persistent HVI.

To evaluate the efficacy of the proposed treatment regimens and to prevent the emergence of antibiotic-resistant strains of the periodontal flora, a comparison was made between the standard drug therapy regimen (Regimen 1) which is used to accompany of subgingival debridement, and the drug treatment regimen without topical antibiotic use (Regimen 2). For this aim the comparison group patients (61 people) who did not have HVI persistence were divided into two subgroups – A (30 subjects) and B (31 subjects). The duration of clinical observation was 1 year with examination checkpoints 3 days, 7 days, 90 days after the intervention, 6 and 12 months.

Careful analysis of the dynamics of hygienic and periodontal indices, the assay of the gingival fluid and the content of histamine and serotonin in it, indices of cell and humoral immunity of subgroups A and B patients showed that these indices in both subgroups did not have a significant difference during the entire observation period. There was a slight increase in the values of hygienic and periodontal indices in group I patients, as compared to the same values on the 90<sup>th</sup> day after subgingival curettage ( $p > 0.001$ ).

Interestingly that after 6 months the most indices had a statistically significant increase as related to similar values on day 90 after debridement ( $p < 0.001$ ) in patients of subgroup A who were treated according to Regimen 1 with topical antibiotics. We think this fact to be shown that antibiotic-resistant strains of periodontal pathogenic microflora have appeared in the oral cavity of such patients, this microflora can cause and maintain the inflammatory process in the periodontal tissues.



On the contrary, in patients of subgroup B who were treated according to Regimen 2, the index dynamics was more positive and almost all indices did not have the significant difference from those on the 90<sup>th</sup> day after subgingival debridement ( $p > 0.05$ ).

Patients of both subgroups of group I underwent professional oral hygiene and were given recommendations regarding oral hygienic care.

After 1 year the dynamics of hygienic and periodontal indices almost did not differ from those that took place in 6 months. The indices value gain in both subgroups was not significant ( $p > 0.05$ ). None of the patients of group I had indications for repeated subgingival debridement. X-ray studies of patients of both subgroups in group I showed that no negative changes, as an increase in destructive phenomena were observed on their orthopantomograms.

As a result, a comparative evaluation of the treatment efficacy of subgroup A patients which Regimen 1 and subgroup B patients (Regimen 2) made it possible to evidence about comparability of these Regimens since the results of both ones did not have a significant difference.

The comparative assessment of the drug treatment regimens efficacy in patients with II<sup>nd</sup> grade CGP associated with persistent HVI has been carried out at the final stage of study. Depending on the used regimen of drug treatment the patients of the main (II) group (78 subjects) were divided into two subgroups: subgroup A (41 subjects) and subgroup BII (37 subjects).

Regimen 3 was proposed for subgroup AII, this scheme provided an application of phytocomplex solution "Dzherelo-I" before the intervention, a course of 21 days. The purpose of the prescription of such phytocomplex was to prevent the emergence of clinical manifestations of oral herpesvirus pathology of patients at the stages of moderate grade CGP treatment. For subgroup BII (37 subjects), Regimen 2 was proposed, this scheme was effective for medication support for subgroup BI patients and did not provide the use of phytocomplex "Dzherelo-I" solution and topical use of antibiotics.

The duration of clinical observation was 1 year with checkpoints: 3 days, 7 days, 90 days after intervention, 6 and 12 months.

In case of complications as HVI clinical manifestations inosine pranobex was prescribed to these patients as soon as possible after subgingival debridement.

After a retrospective analysis of the case histories of patients aged 35 to 60 years who were treated for II<sup>nd</sup> grade GP, it was found that 60.34% of the subjects were HVI carriers. These data were obtained earlier and later confirmed by PCR results, along with this the number of virus carriers prevailing in the age group of 35-45 years. Complications after surgical interventions as HVI clinical manifestations in virus carriers are 57.89% during subgingival debridement and 72.92% during open flap debridement. In addition, the healing of postoperative wounds in patients with HVI may be longer due to the complication of HVI clinical manifestations in the intervals between treatment stages and the expectation of affected elements epithelialization.

It was found after verification of the chronic associated HVI diagnosis that the mild form of HVI was in 57.58% of patients in the 35-45 age group, in 33.33% of patients in the 46-55 age group, in 38.89% of patients in the 56-60 age group. A moderate HVI form is observed in 39.39% of patients, in 55.56% of patients in the 35-45 age group, and 61.11% of patients in the 55-60 age group. Severe HVI form had only 1 (3.03%) patient of 35-45 years group and 3 (11.11%) patients of 46-55 years group. No close correlation was found between age and the clinical course of persistent HVI in patients with II<sup>nd</sup> grade CGP ( $r = 0.3$ ).

In the blood serum study for the presence of IgG and IgM antibodies to 1600 to 1:6400) were in 62 (79.5%). IgG antibodies to CMV were detected in 56 (71.79%) patients, and the antibody titers were slightly lower. IgG antibodies to EBV were detected in 27 (34.61%) patients, but there were no high titers. Since patients with II<sup>nd</sup> grade CGP at the time of the study had a period of HVI remission, IgM antibodies to HSV1, 2 and CMV detected during the blood serum study did not have high titers. IgM antibodies to EBV were not detected.

65 samples of granulation tissue removed during subgingival debridement procedure in patients of the main group and patients in the comparison group for the presence or absence of HSV1, 2, CMV and EBV have been studied. HVI was detected in 48 (73.84%) cases of examination of granulation tissue samples. No viral

infection was detected in 17 (26.15%) samples.

Monoviral infection was detected in 14 (29.17%) samples and associated HVI was detected in 34 (70.83%) samples.

In the main group patients with monoinfection regardless of the virus type (HSV1, 2, CMV and EBV) and regardless of the IgG titer, a decrease in the content of CD3+, CD4+, CD16+ and CD 22+ is shown, the metabolic activity of neutrophils according to spontaneous and induced nitroblue tetrazolium reduction test (NBT), increase in CD8+ level ( $p < 0.05$ ). The value of immunoregulatory index was 34.95% lower than in the control group ( $p < 0.05$ ). The values of IgA, IgG and IgM in the patients' blood corresponded to the value in the group. The level of circulating immune complexes (CIC) was significantly higher (by 34.97%) in the subjects with healthy periodontium.

In case of polyviral infection, the indices of main group patients with IgG low level in the absence of IgM in the blood serum and viral antigens in the blood and oral fluid relative to the levels of IgA, IgM and IgG, were almost identical to the mean value in the group. The increase in the CIC content in the blood serum of group II subjects with polyviral infection significantly exceeded the value of this indicator in the comparison group ( $p < 0.05$ ). The increase in the CIC level in the blood serum was accompanied with a decrease in the NBT test values.

In case of polyviral infection with high IgG titers, the presence of IgM and the antigens in saliva and blood, the content of CD3 +, CD4 +, CD16 + and CD22 + lymphocytes was reduced as compared to the control group ( $p < 0.05$ ). The level of CD8 + lymphocytes exceeded the data of the control group by 43.76% ( $p < 0.05$ ). The value of the immunoregulatory index was 2.1 times lower than that of the control group ( $p < 0.05$ ).

The decrease in NBT test scores was accompanied by a significant increase in CEC values in the serum. The serum IgG level increased to the largest group values and makes up  $31.18 \pm 1.7$  g/L, the IgM concentration in the blood serum did not exceed the mean group values, there were no significant changes in the IgA content, since it did not depend on the amount of circulating antiviral antibodies.

Parameters of the cell and humoral immunity of patients with II<sup>nd</sup> grade CGP

did not have the significant difference ( $p > 0.001$ ) with persistence of two or three viruses.

After subgingival debridement procedure in subgroup AII patients the intervention site surface healed  $5 \pm 1.26$  days after procedure, in patients of subgroup BII – after  $6 \pm 2.18$  days. Complications in the form of HVI clinical manifestations on the oral mucosa occurred in 2 (4.88%) patients of AII subgroup and 11 (29.73%) patients of BII subgroup. These patients were prescribed inosine pranobex as immunomodulatory agent with antiviral activity.

Shortly after the subgingival debridement the positive dynamics of hygienic and periodontal indices, the amount of gingival fluid and content of histamine and serotonin in it were observed in most patients of both group II subgroups, although the indices of the AI subgroup exceeded those of the BII subgroup ( $p < 0.05$ ) and did not have a significant difference in comparison with the indices of the comparison group ( $p > 0.05$ ).

The parameters of cell immunity, in the vast majority, increased as compared to those before treatment ( $p < 0.001$ ), and the gain of indices value in the AII subgroup was several times higher than the similar values in the BII subgroup ( $p < 0.05$ ), and in their values approached to comparison group. On the contrary, a percentage of CD 8 decreased moderately ( $p < 0.001$ ), and made up a significant difference between the subgroups of the main group ( $p < 0.05$ ). In relation to the comparison group. The gain of the AII subgroup index was not significant ( $p > 0.05$ ) in relation to the comparison group, although had a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the AII subgroup.

Dynamics evaluation of humoral immunity showed positive changes in this population of patients in the near term shortly after the subgingival debridement. So, the sIgA concentration in the oral fluid significantly increased in comparison with similar indices before treatment in both group II subgroups ( $p < 0.001$ ), and the value gains of the AI subgroup was significant in relation to the subgroup of SII and to the comparison group ( $p < 0, 05$ ). The values of IgA, IgG and Ig M and CIC in the serum of patients decreased in both group II subgroups (with a predominance of decrease percentage in AI subgroup) which constituted the significant difference with the same

indicator before treatment ( $p < 0.001$ ) and between subgroups of the main group ( $p < 0.05$ ).

In the distant terms after subgingival debridement, 58 (74.35%) patients of group II both subgroups showed a clinical picture of remission. Weakly pronounced signs of the inflammatory process were found in 20 (25.64%) patients: in 6 (7.69%) from the AI subgroup and in 14 (17.95%) from the AII subgroup. Bleeding on probing (BOP) index in such patients makes up  $24.04 \pm 0.83$  versus  $61.8 \pm 1.92$  before treatment which constituted the significant difference (61.1%) between the indices ( $p < 0.001$ ).

The slight increase in the values of hygienic and periodontal indices as compared to 90 days after subgingival debridement are noted in patients of both group II subgroups.

In the subgroup of AI which was treated according to Regimen 3, the index dynamics was more positive. Some indices (OHI-S; PP; LEJ) did not have the significant difference with those of the comparison group ( $p > 0.05$ ). The gain in PMA, REC and SIN indices significantly exceeded the value of similar indices in comparison group by 15.53%, 5.76% and 10.88%, respectively ( $p < 0.05$ ).

On the contrary, in the BII subgroup which was treated according to Regimen 2, the index dynamics was less positive and the values gain of the practically all indices had the significant difference both with the indices on day 90 after subgingival debridement ( $p < 0.001$ ) and with the indices of the comparison group ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference between the PMA, LEJ, PEI\* and SIN indices in the AI and VII subgroup ( $p > 0.05$ ). Between the OHI-S and PP indices in the group II subgroups, there was a gain difference of 15.97% and 4.49%, respectively.

During this study period, in group II patients the HVI clinical manifestations were observed: in the AI subgroup in 6 (14.64%) subjects which 2 (4.88%) with severe HVI and 4 (9.76%) with moderate HVI; in the VII subgroup in 17 (45.95%) subjects which 2 (5.41%) had severe HVI and 15 (40.54%) had moderate HVI course.

Patients of both subgroups of group II underwent professional oral hygiene and were given recommendations regarding oral hygienic care. Patients of the AI subgroup were additionally prescribed a repeated course of the Dzherelo-I phytocomplex.

After 1 year the dynamics of periodontal indices PMA, PP, LEJ, REC and SIN practically did not differ from similar indices occurred at the patients examination in 6 months. The values gain for these indices in both subgroups did not have the significant difference ( $p > 0.05$ ).

The quantity of gingival fluid and content of histamine and serotonin in this fluid also increased moderately as compared to the same value on day 90 during the entire observation period in both group II subgroups ( $p < 0.001$ ) and had the significant difference between both indices of the AI and VII subgroups and the comparison group ( $p < 0.05$ ), although a positive trend was observed in relation to similar values of the serotonin content in the gingival fluid of patients of group II before treatment.

In addition, there were the moderate fluctuations in the percentage of CD 3+, CD 4+, CD 16+ and CD 22+ – the enhancement in 6 months and the reduction in 1 year. Fluctuations in the immunoregulatory index value in one year were possible only in the AI subgroup ( $p < 0.001$ ). The difference in these indices value both between the subgroups of AII and VII and the comparison group was significant ( $p < 0.05$ ). The values of NBT test did not have the significant difference between the subgroups of AII and VII and the comparison in 6 months ( $p > 0.05$ ). However, in 1 year this indicator decreased: in the AII subgroup by 5.52% ( $p < 0.001$ ), in the AII subgroup – by 5.49% ( $p < 0.001$ ).

The values of sIgA index in the oral fluid increased insignificantly in 6 months ( $p > 0.001$ ), and decreased in 1 year ( $p > 0.001$ ). In relation to the comparison group, the difference in this indicator was also not significant ( $p > 0.05$ ). The level of IgA, IgG and IgM and CIC in the serum of group I patients decreased throughout the observation period ( $p < 0.001$ ).

Patients of the AII subgroup for whom drug treatment Regimen 3 has been proposed had a lower complaints percentage and complications in the form of clinical

manifestations of the oral HVI in the earliest post-treatment period, short healing times of the intervention site surface than patients of the BII subgroup with Regimen 2. The dynamics of hygienic and periodontal indices during the entire observation period in this subgroup was more positive.

Indices of gingival fluid amount and the content of histamine and serotonin were also significantly better in the AII subgroup in relation to the HII subgroup and approached to the values of the comparison group.

The dynamics of cell and humoral immunity indices in the AI subgroup also showed more positive tendencies towards normalization than in the VII subgroup throughout the entire observation period and did not have significant differences with those in the comparison group.

Comparative evaluation of the treatment efficacy for patients with II<sup>nd</sup> grade CGP associated with persistent HVI showed that Regimen 3 with the combined use of the phytocomplex Dzherelo-I solution before the intervention (course 21 days) and after subgingival curettage procedure (application of the phytocomplex solution to the affected area during one week) was more effective than Regimen 2.

***Key words:*** chronic generalized periodontitis (CGP) of the II<sup>nd</sup> grade, persistent herpesvirus infection, subgingival debridement, gingival fluid, cell and humoral immunity, monoviral infection, polyviral infection.

## Список публікацій здобувача

1. Volosovets TM, Kravchenko AV. Efficacy assessment of the scheme for prevention of herpesvirus infection manifestations in the oral cavity of patients with herpes-associated generalized moderate severity periodontitis. *Wiad Lek* 2020;73(3):578-583. *(Дисертантові належить збір, обробка та аналіз матеріалу, підготовка статті до публікації).*

2. Волосовець ТМ, Кравченко АВ. Удосконалення схем медикаментозної терапії пацієнтів із генералізованим пародонтитом II ступеня на етапах проведення закритого кюретажу та порівняння їх ефективності. *Світ медицини та біології*. 2020;1(71):27-31. *(Дисертантові належить збір, обробка та аналіз матеріалу, підготовка статті до публікації).*

3. Кравченко АВ. Обґрунтування доцільності проведення закритого кюретажу у пацієнтів із генералізованим пародонтитом II ступеня тяжкості, асоційованого з персистуючою герпесвірусною інфекцією. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2019;2(83):86-92.