

На правах рукописи

**Сафонова**

**Татьяна Анатольевна**

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «БЕТАЛЕЙКИН»  
В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАРОДОНТИТА**

14.01.14 – стоматология

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2010

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

**Научные руководители:**

кандидат медицинских наук,  
доцент  
Заслуженный деятель науки РФ,  
член-корреспондент РАМН,  
доктор медицинских наук,  
профессор

**Бутюгин Иван Александрович**

**Долгушин Илья Ильич**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор  
доктор медицинских наук

**Журавлев Валерий Петрович**  
**Гусев Евгений Юрьевич**

**Ведущая организация:**

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита диссертации состоится «24» февраля 2010 г. в «10» часов на заседании совета по защите докторских диссертаций Д 208.102.03, созданного при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Росздрава, по адресу: 620028 г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, а с авторефератом на сайте академии [www.usma.ru](http://www.usma.ru)

Автореферат разослан «20» января 2010 года.

Ученый секретарь совета  
по защите докторских диссертаций  
доктор медицинских наук, профессор

**Базарный В.В.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Заболевания пародонта представляют одну из наиболее распространенных и сложных патологий в стоматологии. За последнее время получены убедительные данные о важной роли иммунных нарушений в патогенезе пародонтита (Булкина Н.В. и др., 2008; Сетдикова Н.Х. и др., 2007; Шаповалов В.Д., 2001).

Большинство исследователей отмечают, что данные об иммунологической реактивности организма больных пародонтитом крайне разнообразны и противоречивы (Безрукова И.В., 2004; Воложин А.И., 2005; Романов А.Е., 2003). Это объясняется разным подходом к выбору способов оценки иммунного статуса, а также зависимостью его от степени тяжести, фазы заболевания, возраста, фоновой патологии и генетической предрасположенности, типа воспалительной реакции и ряда других обстоятельств (Московский А.В., Шумский А.В., 2008). При воспалительных заболеваниях пародонта, в первую очередь, страдает местный иммунитет полости рта, который находит свое отражение в нарушении секреции цитокинов. Дисбаланс в системе провоспалительных и противовоспалительных цитокинов приводит к нарушению клеточных взаимодействий, что, возможно, является причиной хронического воспаления в пародонте (Ковальчук Л.В. и др., 2000).

В силу этих причин патогенетически оправданным и необходимым компонентом комплексного лечения заболеваний пародонта является иммунокорригирующая терапия, позволяющая активизировать местный иммунитет, то есть как можно эффективнее повышать способность тканей к защите от инфекции и регенерации. Многие авторы указывают на перспективность метода локальной иммунокоррекции (Варюшина А.Ю. и др., 2007; Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., 1995; Латюшина Л.С., 2009; Петропавловская О.Ю., 1999; Симбирцев А.С., 2004; Снимщикова И.А. и др., 2003).

Наиболее распространенными в клинической практике средствами являются пептидные и цитокиновые препараты (Ковальчук Л.В. и др., 2000; Снимщикова И.А. и др. 2003; И.С. Фрейдлин И.С., Тотолян А.А., 2001; Ярилин А.А., 1999). Особое место среди цитокинов занимает интерлейкин-1 (ИЛ-1), который является эндогенным медиатором воспалительных и иммунных реакций. Препарат «Беталейкин» – это лекарственная форма рекомбинантного ИЛ-1 $\beta$  человека, получаемого по генно-инженерной технологии. Анализ данных литературы показал отсутствие исследований, посвященных оценке эффективности применения «Беталейкина» в комплексном лечении пародонтита и его влиянии на показатели местного иммунитета полости рта.

**Целью исследования** явилось оценить клинико-иммунологическую эффективность локального применения препарата «Беталейкин» в комплексном лечении пародонтита.

Для достижения сформулированной цели были поставлены следующие **задачи:**

1. Выявить особенности течения хронического генерализованного пародонтита у жителей крупного индустриального центра (на примере города Челябинска).
2. Оценить состояние мукозального иммунитета полости рта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.
3. Исследовать показатели клеточного, гуморального иммунитета, содержание в периферической крови цитокинов, компонентов комплемента у больных хроническим генерализованным пародонтитом.
4. Оценить клинико-иммунологическую эффективность локального применения препарата «Беталейкин» при лечении хронического генерализованного пародонтита.
5. На основании проведенных исследований разработать практические рекомендации по применению «Беталейкина» в комплексном лечении пародонтита.

### **Научная новизна работы**

На основании клинико-иммунологических исследований обосновано локальное применение «Беталейкина» в комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита.

Впервые установлено, что местное применение препарата «Беталейкин» приводит к нормализации уровней провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1, ИНФ- $\gamma$ , ИЛ-4) и иммуноглобулинов классов А и G в содержимом слюны больных хроническим генерализованным пародонтитом. Доказано положительное влияние рекомбинантного ИЛ-1 $\beta$  на основные клинические проявления ХГП; установлена способность «Беталейкина» улучшать показатели иммунной системы у больных ХГП. Показано, что иммунотерапевтический эффект «Беталейкина» не одинаков у больных с различным течением ХГП.

### **Практическая значимость работы**

Обоснована возможность локального применения «Беталейкина» в комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита. Установлено, что местное применение иммунопрепарата «Беталейкин» позволяет улучшить клинические результаты лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом.

Разработаны практические рекомендации локального применения «Беталейкина» при хроническом генерализованном пародонтите.

### **Внедрение результатов исследования**

Местное лечение больных хроническим генерализованным пародонтитом препаратом «Беталейкин» используется в практике работы стоматологического отделения Клиники ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Росздрава», лечебно-хирургического отделения ГУЗ «Областная стоматологическая поликлиника» г. Челябинска.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс подготовки студентов и врачей на кафедре терапевтической стоматологии ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава, кафедре стоматологии ГОУ ДПО УГМАДО Росздрава.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Хронический генерализованный пародонтит у жителей крупного индустриального центра сопровождается изменением цитокинового профиля, иммуноглобулинов ротовой жидкости и находится в прямой зависимости от тяжести воспалительного процесса.

2. У больных с хроническим генерализованным пародонтитом определяются значительные нарушения иммунных показателей периферической крови – снижается содержание CD3+, CD4+, CD8+, CD16+-, повышается уровень CD20+-лимфоцитов и концентрации JgA, G, M, уменьшается функциональная активность нейтрофилов, увеличиваются концентрации провоспалительных цитокинов и уменьшается содержание противовоспалительного цитокина ИЛ-4.

3. Локальное применение «Беталейкина» в комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита приводит к нормализации показателей местного иммунитета полости рта.

### **Апробация работы**

Основные результаты исследования доложены на: Общероссийских научно-практических конференциях Челябинской областной общественной организации «Ассоциация стоматологов» и стоматологического факультета ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава (Челябинск, 2007, 2008, 2009); Российской конференции, посвященной 80-летию со дня рождения Р.И. Лифшица «Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии» (Челябинск, 2009); научно-практической конференции «Актуальные проблемы стоматологии», посвященной 65-летию ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава и 10-летию ЧООО «Ассоциация стоматологов» (Челябинск, 2009).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 1 статья в рецензируемом журнале, рекомендованном ВАК Минобразования РФ.

## **Объем и структура диссертации**

Работа изложена на 155 страницах текста, набранного на компьютере в текстовом редакторе Microsoft Word, иллюстрирована 25 таблицами и 7 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 250 источников, в том числе 178 отечественных и 72 иностранных авторов.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Объектом наблюдения были жители г. Челябинска, обратившиеся за медицинской помощью в стоматологическое отделение Клиники ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава.

На первом этапе для определения особенностей структуры воспалительных заболеваний пародонта нами было проведено обследование 309 пациентов в возрасте от 18 до 59 лет за период с 2006 по 2008 гг. В группу исследования были включены мужчины и женщины.

На втором этапе на базе стоматологического отделения Клиники и научно-исследовательского института иммунологии ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава нами было проведено клинко-иммунологическое обследование 100 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) в возрасте от 18 до 59 лет. В группу исследования были включены мужчины и женщины: 33 (33%) мужчин и 67 (67%) женщин. Контрольную группу составили 22 клинически здоровых донора с интактным пародонтом в возрасте от 18 до 44 лет.

На третьем этапе для оценки клинко-иммунологической эффективности использования препарата «Беталейкин» было проведено проспективное, сравнительное, рандомизированное исследование. Пациенты

(n=100) были разделены на 2 группы в зависимости от метода местного лечения – основную группу (n=50), в которой больным на фоне традиционной терапии местно применяли иммунопрепарат «Беталейкин», и группу сравнения (n=50), в которой больные получали лечение по стандартной схеме без применения иммунопрепарата.

Критерии включения в исследование: 1) наличие хронического генерализованного пародонтита; 2) возраст больных от 18 лет до 59; 3) общее настоящее состояние – удовлетворительное; 4) отсутствие острых и обострения хронических болезней; 5) информированное добровольное согласие больных на участие в исследовании. Критерии исключения из исследования: 1) наличие тяжелой соматической и психической патологии; 2) онкологические заболевания; 3) гормональные нарушения; 4) беременность, лактация; 5) использование больными иммуномодулирующих препаратов в течение последние 6 месяцев; 6) отказ пациента от участия в исследовании.

Исследование выполнено после одобрения этическим комитетом ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава протокола на соответствие предлагаемой работы требованиям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) последнего пересмотра (Эдинбург, 2000) с учетом разъясняющего примечания к параграфу 29, внесенного Генеральной Ассамблеей ВМА (Вашингтон, 2002 г).

В работе использовалась классификация заболеваний пародонта, принятая проблемной комиссией по стоматологии АМН СССР в Ереване (1983 г.) и дополненная в 2001 г. на секции пародонтологов Российской академии стоматологов. В зависимости от степени тяжести больные были разделены на 2 группы: с легкой степенью – 50 человек и средней степенью – 50 человек. Легкая степень ХГП диагностирована у 25 человек в основной группе и у 25 человек – в группе сравнения. Средняя степень тяжести заболевания – у 25 пациентов, получавших «Беталейкин», и у 25 больных, пролеченных по стандартной схеме. Группы были сопоставимы по возрасту,



полу, сопутствующей патологии, характеру и глубине поражения тканей пародонта.

### **Клинические методы обследования**

Всем больным проводилось комплексное обследование. Результаты фиксировались в истории болезни по форме 043/у и в разработанной индивидуальной пародонтологической карте больного.

Программа обследования включала сбор жалоб, анамнеза, клинический осмотр, при котором отмечали зубную формулу, состояние прикуса, уздечек верхней и нижней губ, тяжей, наличие мягкого зубного налета, над- и поддесневых отложений, отмечали глубину пародонтальных карманов, характер экссудата, степень кровоточивости десны, изменение цвета слизистой оболочки десны. Для оценки состояния тканей пародонта в процессе лечения и наблюдения больных использовались следующие методы: определение гигиенического индекса (ГИ) (Green J.C., Vermillion J.R., 1964); папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА) (Parma G., 1960); пародонтального индекса (ПИ) (Russel A., 1967), индекса кровоточивости Мюллемана (Muhlemann H.R., Son S., 1971), для оценки потребности в лечении заболеваний пародонта использовали индекс Community Periodontal Index of Treatment Needs (СРITN), предложенный ВОЗ (1978). Для уточнения степени тяжести ХГП проводилась оценка ортопантограмм и прицельных внутриротовых контактных рентгенограмм отдельных групп зубов.

Всем обследуемым больным проводилось комплексное лечение. На первом этапе лечения пациентов обучали стандартной методике чистки зубов с последующим контролем степени очищения зубов с помощью раствора эритрозина красного. Каждому пациенту подбирали индивидуальные средства и предметы гигиены полости рта.

Местная терапия включала: проведение профессиональной гигиены полости рта, лечение кариеса и его осложнений (по показаниям), устранение дефектов пломб, неполноценных коронок и мостовидных протезов;

избирательное шлифование, выравнивание окклюзионной поверхности для исключения травматических узлов, поддерживающих воспаление; иммобилизацию подвижных зубов путем временного шинирования, при необходимости проводили ортопедическое лечение. Для ликвидации воспалительного процесса в десне проводили ирригацию антисептическими растворами при помощи шприца, вводили в пародонтальные карманы (ПК) турунды с 5% бутадионовой мазью, использовали биополимерные пленки «Диплен-Дента», содержащие лекарственные препараты, в первые 3-4 посещения; для ликвидации пародонтальных карманов – закрытый кюретаж. Назначались: комплексные поливитаминные препараты в течение 1 месяца; аскорутин по 1 таблетке 3 раза в день – 2-3 недели; Кальций-Д<sub>3</sub> Никомед по 1 таблетке 2 раза в день в течение месяца. Чистка зубов, применение геля «метрогил-дента», назначение антисептических ванночек и настоев лекарственных трав в домашних условиях. После ликвидации воспалительных явлений по показаниям проводили дальнейшее лечение.

В комплексное лечение больных основной группы был включен препарат «Беталейкин». Содержимое 1 ампулы растворяли в 1 мл стерильного 0,9% физиологического раствора. Зубной ряд изолировали от слюны с помощью адсорбционных валиков и слюноотсоса. Проводилась инстилляционная пародонтальная терапия. Экспозиция 15 минут. Курс лечения составлял 5 процедур через день.

Лечение больных группы сравнения проводилось по стандартной методике. Оценку эффективности клинико-иммунологических показателей проводили через 15 дней после окончания лечения, отдаленных клинических результатов – через 6 месяцев после него.

### **Иммунологические методы исследования**

Иммунологические исследования проводили дважды: непосредственно перед началом лечения и через 3 дня после окончания курса лечения. В периферической крови определяли общее количество лейкоцитов, содержание субпопуляций лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+,

CD56+, CD95+) оценивали по методике С.В. Сибиряк с соавт. (1997). Подсчитывали соотношение CD4+/CD8+. Для функциональной активности нейтрофилов определяли фагоцитарную активность на модели поглощения частиц латекса (Фрейдлин И.С. и др., 1976), лизосомальную активность (Фрейдлин И.С. с соавт., 1986), кислородзависимый метаболизм фагоцитов с помощью спонтанного и индуцированного НСТ-тестов (Маянский А.Н., Виксман М.Е., 1979). Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови оценивали по методике Mancini G. et al. (1965) в модификации А.А. Тихомирова (1977). Исследование уровня концентрации комплемента (СН-50, С<sub>1</sub>, С<sub>3</sub>, С<sub>5</sub>) проводили методом молекулярного титрования (Красильников А.П., 1984). Концентрацию ЦИК в сыворотке крови определяли по методу В. Гашковой с соавт. (1978). Исследование концентрации цитокинов (ИЛ-1, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-4) сыворотки крови, слюны производили с использованием тест-систем для иммуноферментного анализа, произведенных ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) (С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина, 1998). Уровень IgA, IgM, IgG в нестимулированной смешанной слюне определяли по методике Mancini G. et al. (1965), саливаторный уровень sIgA определяли методом ИФА (тест-системы «ИФА-БЕСТ-СТРИП», ЗАО «Вектор-Бест», РФ).

Результаты исследования обрабатывались на ПК с использованием пакета лицензионных прикладных программ «Statistica 6,0». Для каждого показателя проверялась статистическая гипотеза о нормальности распределения данных по критерию Стьюдента (t),  $\chi^2$  и Колмогорова-Смирнова и равенстве дисперсий. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **Клинические результаты исследований**

В результате проведенных исследований было выявлено, что у жителей г. Челябинска в возрасте от 18 до 59 лет часто преобладал хронический

генерализованный пародонтит (ХГП) легкой степени – 89 пациентов (28,8%) и средней степени – 151 больных (48,9%).

У больных с ХГП лёгкой степени наиболее характерными были жалобы на кровоточивость дёсен при чистке зубов, наличие зубных отложений, неприятный запах изо рта, ощущение зуда, жжения, чувство дискомфорта. Длительность заболевания составляла 2-5 лет. При объективном исследовании наблюдались незначительная гиперемия десневого края, пастозность, увеличение объема десневых сосочков, легкая кровоточивость при зондировании и нарушение целостности зубодесневого соединения, над- и поддесневые минерализованные зубные отложения. Глубина пародонтальных карманов достигала 2,5-3,5 мм. Отмечали неудовлетворительную гигиену полости рта – ИГ –  $1,68 \pm 0,04$ ; PI –  $2,22 \pm 0,05$ ; РМА –  $22,85 \pm 1,5\%$ , индекс Мюллемана –  $1,67 \pm 0,15$ ; СРITN –  $2,0 \pm 0,05$ .

Больные с ХГП средней степени тяжести предъявляли жалобы на кровоточивость десны во время чистки зубов и при приеме жесткой пищи, иногда появляющуюся болезненность при жевании, зуд, жжение в области десны, неприятный запах изо рта, подвижность одного или нескольких зубов, наличие обильных зубных отложений. Длительность заболевания составила от 5 до 10 лет. При объективном обследовании отмечали гиперемию и отёк слизистой оболочки десны, цианоз межзубных десневых сосочков, неплотное прилегание десны к зубам, наддесневые и поддесневые минерализованные зубные отложения. Глубина пародонтальных карманов достигала 4-5 мм. Подвижность зубов I-II степени, смещение зубов и развитие травматической окклюзии. I степень подвижности выявлена у 32 больных (64%), II степень – у 9 больных (18%). ИГ –  $2,55 \pm 0,03$ ; PI –  $3,95 \pm 0,06$ ; РМА –  $44,25 \pm 2,75$ ; индекс Мюллемана –  $2,38 \pm 0,18$ ; СРITN –  $2,6 \pm 0,05$ .

У обследуемых контрольной группы жалобы отсутствовали. При осмотре выявлен здоровый пародонт. Индекс РМА=0, ИГ= $0,7 \pm 0,04$ , что соответствовало хорошему уровню гигиены полости рта.

Клинический эффект в основной группе больных наблюдался уже на 6-8-е сутки от начала лечения, полное исчезновение воспалительного процесса отмечалось на 14-16-е сутки. В группе сравнения у больных симптомы воспаления мягких тканей пародонта были полностью купированы на 17-20-е сутки.

Мы обнаружили, что средняя продолжительность лечения больных в основной группе была достоверно меньше, чем у пациентов, которых лечили традиционными местными препаратами.

Исходный уровень гигиены полости рта и состояние пародонта у пациентов обеих групп были схожими. Через 15 дней и через 6 месяцев после проведенного лечения хронического генерализованного пародонтита легкой и средней степени наблюдался хороший уровень гигиены по Грину-Вермиллиону во всех группах (табл. 1).

В группе, в которой проводили лечение «Беталейкином», через 15 дней отмечались улучшения значений пародонтального индекса (PI) – средний показатель был снижен по сравнению с исходным в 3 раза при легкой степени тяжести и составил  $0,68 \pm 0,011$ ; и в 1,7 раза - при средней степени тяжести и составил  $2,26 \pm 0,04$ . В группе сравнения PI снижался в 2,5 раз и составил  $0,93 \pm 0,03$  при легкой степени тяжести; у больных со средней степенью тяжести уменьшался в 1,4 раза и составил  $2,93 \pm 0,03$ . В отдаленные сроки (через 6 месяцев) у пациентов ХГП легкой степени основной группы PI составил  $0,63 \pm 0,02$  (против  $2,15 \pm 0,06$  до лечения), у больных ХГП средней степени основной группы PI –  $2,32 \pm 0,05$  (против  $3,9 \pm 0,06$  до лечения). У пациентов ХГП легкой степени группы сравнения получены следующие результаты: PI –  $0,95 \pm 0,04$  (против  $2,3 \pm 0,04$  до лечения), у пациентов ХГП средней степени PI –  $3,19 \pm 0,20$  (против  $3,98 \pm 0,06$  до лечения).

Таблица 1

**Основные клинические показатели в динамике у больных ХГП легкой и средней степени основной группы и группы сравнения (M±m)**

Показа- тели состояния пародонта	Степень тяжести	Традиционное лечение + «Беталейкин» (n=50)			Традиционное лечение (n=50)		
		до лечения	после лечения (через 15 дней)	через 6 месяцев	до лечения	после лечения (через 15 дней)	через 6 месяцев
		ОHI-S, баллы	легкая (n=250)	1,6±0,04	0,55±0,02*	0,94±0,06*	1,75±0,03
	средняя (n=25)	2,51±0,03	1,4±0,08*	1,65±0,12*	2,6±0,04	1,81±0,06*#	2,0±0,02*#
PI, баллы	легкая (n=25)	2,15±0,06	0,68±0,01*	0,63±0,02*	2,3±0,04	0,93±0,03*#	0,95±0,04*#
	средняя (n=25)	3,9±0,06	2,26±0,04*	2,32±0,05*	3,98±0,06	2,93±0,03*#	3,19±0,20*#
РМА,%	легкая (n=25)	22,4±1,4	6,9±0,03*	8,65±0,04*	23,3±1,6	9,8±0,04*#	17,45±0,03*#
	средняя (n=25)	43,7±2,9	11,6±0,2*	12,1±0,3*	44,8±2,6	15,1±1,0*#	19,91±1,01*#
Кровото- чивость, баллы	легкая (n=25)	1,6±0,17	0,01±0,001*	0,11±0,002*	1,74±0,12	0,03±0,001*	0,53±0,002*#
	средняя (n=25)	2,34±0,18	0,1±0,04*	0,24±0,10*	2,42±0,17	0,25±0,01*#	0,68±0,06*#
СРITN	легкая (n=25)	1,93±0,05	1,47±0,04*	1,54±0,05*	2,06±0,04	1,54±0,04*	1,61±0,03*
	средняя (n=25)	2,59±0,05	1,95±0,06*	2,04±0,04*	2,52±0,04	2,15±0,03*#	2,22±0,04*#

**Примечание:** \* – достоверность различий с пациентами до лечения при  $p < 0,001$ , # – достоверность различий с пациентами при традиционном лечении при  $p < 0,002$ .

Индекс РМА до начала лечения был высоким у больных всех групп. Под влиянием проводимого лечения снизился у больных основной группы в 3,2 раза и составил  $6,9 \pm 0,3\%$  и в 2,3 раза у больных группы сравнения составил  $9,8 \pm 0,4\%$  при легкой степени тяжести; через 6 месяцев РМА составляли  $8,65 \pm 0,04\%$  и  $17,45 \pm 0,03\%$  соответственно; при средней степени тяжести в основной группе соответственно в 3,7 раза – составил  $11,6 \pm 0,2\%$  и в 2,9 раза в группе сравнения и составил  $15,1 \pm 1,0\%$ ; через 6 месяцев показатели РМА были  $12,1 \pm 0,3\%$  и  $19,91 \pm 1,01\%$  соответственно. У больных, получавших традиционное лечение, в отдаленные сроки наблюдалось увеличение показателей РМА, что говорит о рецидивировании воспалительного процесса в тканях пародонта.

До начала лечения индексы кровоточивости были положительными у всех пациентов и составляли от 1,6 до 1,74 – при легкой степени тяжести и от 2,34 до 2,42 – при средней степени тяжести. Сразу после проведенного лечения показатели кровоточивости во всех группах кардинально улучшились. Однако в основной группе показатели были наиболее благоприятными. Лишь у одного человека была отмечена слабо выраженная кровоточивость при средней степени тяжести. В группе сравнения показатель кровоточивости составил  $0,25 \pm 0,01$ , что означало наличие кровоточивости у трех пациентов из 25. Через 6 месяцев у пациентов ХГП легкой степени основной группы индекс Мюллеманна составил  $0,11 \pm 0,002$  и в группе сравнения –  $0,53 \pm 0,00$ ; у больных ХГП средней степени основной группы индекс Мюллеманна составил  $0,24 \pm 0,10$  и в группе сравнения –  $0,68 \pm 0,06$  соответственно.

CRITN регистрировался в основной группе с легкой степенью тяжести через 2 недели лечения  $1,47 \pm 0,04$ , в группе сравнения соответственно –  $1,54 \pm 0,04$ . Через 15-16 дней от начала лечения у больных основной группы средней степени тяжести индекс CRITN составил  $1,95 \pm 0,06$  и в группе сравнения –  $2,15 \pm 0,03$  баллов (табл. 1).

Лечение больных ХГП легкой и средней степени тяжести дает позитивные результаты во всех группах. Наилучшие сдвиги отмечены сразу после проведения лечения. При включении в комплекс консервативного лечения ХГП местного применения препарата «Беталейкин» наблюдались достоверно лучшие результаты (в ближайшие сроки – через 15 дней и в отдаленные сроки наблюдения – через 6 месяцев), чем в группе с традиционным лечением.

Таким образом, локальное применение «Беталейкина» позволило улучшить результаты лечения пациентов с ХГП, добиться более длительной ремиссии состояния тканей пародонта, что подтверждается данными клинического обследования и индексной оценкой.

### **Результаты иммунологических исследований**

Иммунологические исследования показали функциональные сдвиги в иммунной системе больных с ХГП, проявляющиеся в ослаблении факторов иммунитета на местном уровне. При исследовании уровня sIgA в содержимом смешанной слюны нами обнаружено снижение данного показателя при ХГП по сравнению с контрольными значениями ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). В ходе активного иммунного ответа на поступление антигена в слюнной жидкости и секрете слюнной железы определяются IgG и IgM антитела. IgM достоверно представлен в малых концентрациях в слюне.

Концентрация IgG при хроническом воспалительном процессе имела тенденцию к повышению, так как IgG непосредственно участвует в защите от инфекции. На нашем примере, чем тяжелее течение хронического генерализованного пародонтита, тем выше концентрация IgG в слюне (при ХГП легкой степени тяжести  $0,09 \pm 0,02$  мг/мл; при ХГП средней степени тяжести  $0,12 \pm 0,03$  мг/мл).



**Содержание иммуноглобулинов в слюне у больных ХГП легкой и средней степени тяжести и у клинически здоровых лиц**

Показатели состояния пародонта	Статистические показатели	Хронический генерализованный пародонтит		Клинически здоровые (n=22)
		легкая степень (n=50)	средняя степень (n=50)	
Ig A, мг/мл	M±m	0,475±0,004*	0,503±0,08*	0,28±0,04
Ig M, мг/мл	M±m	0,031±0,002*	0,031±0,001*	0,13±0,04
Ig G, мг/мл	M±m	0,09±0,02	0,12±0,03	0,08±0,04
sIg A, мг/л	M±m	282,88±4,49*	152,22±3,4*#	302,3±5,89

**Примечание:** \* – достоверные различия с нормой при уровне значимости  $p < 0,05$ , # – достоверные различия с легкой степенью при уровне значимости  $p < 0,001$

В результате проведенных иммунологических исследований слюны у больных ХГП легкой степени обнаружено повышение концентрации провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 $\beta$  с  $5,85 \pm 0,92$  до  $19,71 \pm 1,22$  пг/мл и ИФН- $\gamma$  с  $18,35 \pm 0,87$  до  $26,14 \pm 2,4$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). У больных ХГП средней степени уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$  также был повышен по сравнению со здоровыми лицами и составил  $21,04 \pm 1,68$  пг/мл и  $38,99 \pm 3,28$  пг/мл, соответственно. Содержание противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в содержимом слюны у больных ХГП легкой и средней степени, напротив, было значительно снижено и составило  $4,53 \pm 0,25$  пг/мл и  $3,53 \pm 0,14$  пг/мл, при  $13,15 \pm 0,12$  в контроле. Таким образом, содержание исследованных показателей цитокинового профиля (ИЛ-1, ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4) в содержимом слюны менялось в зависимости от тяжести поражения тканей пародонта.

Традиционное лечение больных ХГП без применения иммунопрепарата сопровождалось положительной динамикой не только клинических, но и иммунологических показателей. До и после лечения оценивался иммунный статус полости рта по содержанию иммуноглобулинов в слюне.

После проведения традиционной терапии количество sIgA в содержимом слюны составляло ( $294,1 \pm 12,9$  мг/л при ХГП легкой степени тяжести и  $227,63 \pm 40,3$  мг/л при ХГП средней степени тяжести при  $302,3 \pm 5,89$  мг/л в контроле). Концентрация IgG через 15 дней изменялась и составила  $0,094 \pm 0,02$  мг/мл при ХГП легкой степени тяжести и  $0,107 \pm 0,02$  мг/мл при ХГП средней степени тяжести, при контроле  $0,107 \pm 0,02$  мг/мл (табл. 3).

Таблица 3

**Динамика иммунологических показателей слюны у больных ХГП до и после лечения (M±m)**

Показатели состояния пародонта	Клинические здоровые (n=22)	Степень тяжести	Традиционное лечение + «Беталейкин» (n=50)		Традиционное лечение (n=50)	
			до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
IgA, мг/мл	0,28±0,04	легкая (n=25)	0,452±0,006	0,502±0,08	0,498±0,001	0,517±0,002*
		средняя (n=25)	0,429±0,09	0,619±0,04	0,577±0,07	0,618±0,05
IgM, мг/мл	0,13±0,04	легкая (n=25)	0,025±0,003	0,020±0,003	0,036±0,001	0,023±0,004
		средняя (n=25)	0,03±0,003	0,023±0,004	0,031±0,055	0,029±0,055
IgG, мг/мл	0,08±0,04	легкая (n=25)	0,09±0,02	0,04±0,011*	0,107±0,02	0,094±0,02#
		средняя (n=25)	0,107±0,02	0,044±0,002*	0,11±0,03	0,107±0,02
sIgA, мг/л	302,3±5,89	легкая (n=25)	281,4±11,27	308,86±13,4*	284,35±11,7	294,1±12,9#
		средняя (n=25)	137,91±23,37	229,86±31,3*	166,53±49,4	227,63±40,3

**Примечание:** \* – достоверность различий с контролем при  $p < 0,05$ , # – достоверность различий с традиционным лечением при  $p < 0,01$ .

Применение «Беталейкина» в комплексной терапии позволило через 15 дней поднять величины секреторного IgA в содержимом ротовой жидкости больных пародонтитом при обеих степенях заболевания. При оценке показателя sIgA в слюне в процессе динамического наблюдения за больными со средней степенью тяжести основной группы было обнаружено, что через 15 дней от момента начала лечения он был существенно выше, но ниже

нормы, чем у здоровых лиц, это подразумевает продолжение наблюдения за больными. Применение «Беталейкина» способствовало снижению концентрации IgG в слюне. Исследования, проведенные через 15 дней после лечения в основной группе показали, что у больных с легкой степенью пародонтита содержание IgG снижалось и составило  $0,04 \pm 0,011$  мг/мл, а у больных со средней степенью –  $0,044 \pm 0,002$  мг/мл.

Концентрация в слюне провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИФН- $\gamma$  у больных ХГП легкой степени снижалась в процессе лечения (ИЛ-1 $\beta$  с  $20,13 \pm 0,92$  до  $16,4 \pm 0,83$  пг/мл, ИФН- $\gamma$  с  $25,35 \pm 2,09$  до  $23,69 \pm 2,3$  пг/мл). При ХГП средней степени эта разница была еще более выраженной (ИЛ-1 $\beta$  с  $20,87 \pm 1,71$  снизилась до  $17,5 \pm 1,42$  пг/мл; ИФН- $\gamma$  с  $37,72 \pm 9,07$  до  $30,29 \pm 5,5$  пг/мл) ( $p < 0,05$ ). Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-4 после проведенного курса традиционного лечения имела тенденцию к увеличению с  $4,9 \pm 1,34$  до  $9,1 \pm 2,24$  пг/мл при ХГП легкой степени и увеличилась с  $3,93 \pm 1,77$  до  $9,98 \pm 2,6$  пг/мл при пародонтите средней степени, не достигнув контрольных значений  $13,15 \pm 0,12$ .

Включение в комплексную терапию препарата «Беталейкин» приводило к выраженным изменениям уровня изучаемых цитокинов в содержимом слюны, причем данная тенденция сохранялась при ХГП как легкой, так и средней степени. Так, концентрация провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$  через 15 дней наблюдения достоверно снижалась под влиянием проводимого лечения. Например, содержание ИЛ-1 $\beta$  у больных ХГП легкой степени при применении «Беталейкина» достигало  $10,14 \pm 0,32$  пг/мл и  $13,9 \pm 0,21$  пг/мл при ХГП средней степени тяжести при  $5,85 \pm 0,92$  пг/мл в контроле. Уровень ИФН- $\gamma$  у больных ХГП легкой степени при применении иммунопрепарата составлял  $16,2 \pm 1,75$  пг/мл и  $19,49 \pm 1,42$  пг/мл при ХГП средней степени при  $18,35 \pm 0,8$  пг/мл в контроле. Применение «Беталейкина» в терапии ХГП приводит к значительному повышению концентрации противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в содержимом слюны. Особенно данные изменения выражены как при легкой, так и при средней

степени ХГП ( $12,83 \pm 1,17$  пг/мл и  $11,54 \pm 0,79$  соответственно, при  $13,15 \pm 0,12$  в контроле).

Таким образом, оценка изменений содержания иммуноглобулинов и цитокинов в слюне больных ХГП легкой и средней степени тяжести в ближайшие сроки после комплексного лечения на фоне иммунокоррекции «Беталейкином», позволило сделать заключение о значительных сдвигах исследуемых концентраций в сторону восстановления баланса цитокинового профиля. Отмечалось снижение провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$  и увеличение содержания противовоспалительного ИЛ-4. Увеличивались концентрации IgA, sIgA в слюне.

Анализируя иммунологические показатели больных с ХГП легкой и средней степени тяжести, мы можем заключить, что у этих пациентов перед началом лечения в различных звеньях клеточного иммунитета определялся ряд достоверных отклонений от показателей контрольной группы условно здоровых доноров. В периферической крови больных с ХГП легкой степени тяжести наблюдалась лимфопения. Определялось достоверное снижение относительного числа CD 3+, CD4+; CD8+-лимфоцитов у больных ХГП средней степени тяжести (табл. 4).

Таблица 4

**Содержание субпопуляций лимфоцитов в периферической крови у пациентов с ХГП легкой и средней степени тяжести и у клинически здоровых лиц**

Исследуемые показатели	Статистические показатели	Хронический генерализованный пародонтит		Клинически здоровые (n=22)
		легкая степень (n=50)	средняя степень (n=50)	
CD3+, %	M $\pm$ m	48,93 $\pm$ 1,04	41,4 $\pm$ 0,15*#	52,25 $\pm$ 1,12
CD4+, %	M $\pm$ m	24,51 $\pm$ 0,93*	21,94 $\pm$ 0,05*	29,75 $\pm$ 1,18
CD+8, %	M $\pm$ m	24,11 $\pm$ 0,28*	19,32 $\pm$ 0,12*#	21,37 $\pm$ 0,14
CD4+/CD8+, усл. ед.	M $\pm$ m	1,06 $\pm$ 0,01*	1,19 $\pm$ 0,01*#	1,34 $\pm$ 0,03
CD16+, %	M $\pm$ m	15,5 $\pm$ 1,02	14,2 $\pm$ 0,7	15,36 $\pm$ 0,84
CD56+, %	M $\pm$ m	15,92 $\pm$ 1,21*	15,69 $\pm$ 0,8*	12,11 $\pm$ 0,27
CD95+, %	M $\pm$ m	20,33 $\pm$ 0,9	18,5 $\pm$ 2,08	20,02 $\pm$ 1,18

**Примечание:** \* – достоверные различия с нормой при уровне значимости  $p < 0,002$ , # – достоверные различия с легкой степенью при уровне значимости  $p < 0,001$ .

Соотношение CD4+/CD8+ было также достоверно ниже нормального, что свидетельствует об активном воспалительном процессе.

При исследовании гуморального звена иммунитета мы обнаружили увеличение CD20+ клеток, повышение уровня иммуноглобулинов M, G и концентрации циркулирующих иммунных комплексов, тенденцию к повышению уровня иммуноглобулина A. Изменения в системе комплемента выражались в снижении активности всех компонентов комплемента, что может быть связано с их интенсивным потреблением для образования повышенного количества ЦИК.

У пациентов с ХГП отмечалось достоверное увеличение относительного содержания нейтрофилов и имела тенденция к увеличению абсолютного количества этих клеток, снижение активности и интенсивности фагоцитоза этих клеток, тенденция к понижению активности кислородзависимого метаболизма нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте и индуцированном НСТ-тесте. Возможно, в условиях хронического воспалительного процесса в пародонте происходило повышенное потребление нейтрофилов. Изменения в цитокиновом спектре – достоверно увеличивались уровни ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$ , уменьшался показатель ИЛ-4.

Обнаружено, что у пациентов, получавших «Беталейкин», было выявлено опосредованное восстановление ряда параметров, угнетенных вследствие системного влияния на иммунную систему хронического процесса. К 15-му дню было зарегистрировано восстановление содержания общего числа лимфоцитов, популяций CD3+ и CD4+ клеток, определялось снижение до нормы уровня IgA, ЦИК. «Беталейкин» обеспечивал достоверно более выраженную активацию фагоцитоза у больных с ХГП средней степени тяжести. Отмечалось восстановление в крови концентрации ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4. У пациентов с ХГП, получавших стандартное лечение, определялось низкое

относительное содержание CD3+, CD4+-лимфоцитов. Относительное содержание клеток, несущих маркер естественных киллеров (CD16+) в результате лечения оставалось в пределах нормальных значений, независимо от метода лечения.

Таким образом, можно сделать вывод, что комплексная терапия ХГП, включающая «Беталейкин», оказывает более эффективное и продолжительное действие. Это подтверждается данными клинико-иммунологического исследования.

## **ВЫВОДЫ**

1. У жителей трудоспособного возраста крупного индустриального центра (г. Челябинск) чаще выявляется пародонтит легкой (28,8%) и средней (48,54%) степени тяжести.

2. У больных хроническим генерализованным пародонтитом выявляются изменения параметров мукозального иммунитета: повышение уровней ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$ , IgG в слюне, снижение содержания ИЛ-4, sIgA. Изменения концентрации цитокинов и иммуноглобулинов зависят от степени тяжести воспалительного процесса в пародонте.

3. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом наблюдаются нарушения системного иммунитета. Характерными признаками иммунологической дисфункции пародонтита легкой и средней степени тяжести по сравнению со здоровыми донорами являются: снижение количества CD3+, CD4+, повышение уровня CD20+-лимфоцитов, нейтрофилов, увеличение концентрации Ig G, M, A, ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови, снижение активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофилов, кислородзависимого метаболизма нейтрофилов в НСТ-спонтанном тесте и повышенные показатели в НСТ-индуцированном тесте, увеличение количества ЦИК, снижение активности всех компонентов комплемента, лизосомального аппарата нейтрофилов, концентрации ИЛ-4.

4. Применение «Беталейкина» в комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита приводит к сокращению сроков лечения на 3-4 дня, снижению активности воспаления в слизистой оболочке десны, восстановлению баланса цитокинового профиля – снижению концентрации саливаторного уровня ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$  и увеличению ИЛ-4, нормализации концентрации IgG и sIgA в слюне, способствует восстановлению содержания CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+-лимфоцитов, уровня IgA, ЦИК в периферической крови.

5. На основании клинико-иммунологического исследования разработаны практические рекомендации местного применения препарата «Беталейкин» в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для уточнения тяжести поражения пародонтита и оценки эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита целесообразно проводить оценку про- и противовоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-4 в слюне.

2. При лечении больных ХГП рекомендуем использовать иммунопрепарат «Беталейкин». Рекомендуем проводить инстилляци в пародонтальные карманы по схеме: 5 процедур, проводимых через день с экспозицией по 15 минут. Раствор готовят следующим образом: содержимое 1 ампулы разводят в 1 мл стерильного 0,9% физиологического раствора. Приготовленный раствор препарата необходимо хранить при температуре +4 $^{\circ}$ C (по инструкции).

**Список научных работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. Бутюгин, И.А. Состояние местного иммунитета полости рта у пациентов с преждевременным старением, страдающих пародонтитом / И.А. Бутюгин, Т.А. Сафонова // Актуальные проблемы медицинской науки, технологий и профессионального образования: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 25-летию УГМАДО. – Челябинск. – 2005. – Т. 2. – С. 39-40.

2. Сафонова, Т.А. Клинико-иммунологическая эффективность применения беталейкина в комплексном лечении генерализованного пародонтита / Т.А. Сафонова, И.А. Бутюгин // Популяционное здоровье. Наш вклад в его укрепление: сб. науч. работ. – Челябинск, 2009. – С. 100-103.

3. Сафонова, Т.А. Беталейкин в терапии хронического генерализованного пародонтита / Т.А. Сафонова // Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии: материалы рос. конф., посвящ. 80-летию со дня рождения Р.И. Лифшица. – Челябинск, 2009. – С. 168.

4. Сафонова, Т.А. Применение «Беталейкина» у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом / Т.А. Сафонова, И.А. Бутюгин // Актуальные проблемы стоматологии: материалы конф., посвящ. 65-летию ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава и 10-летию ЧООО «Ассоциация стоматологов». – Челябинск, 2009. – С. 30-33.

5. Сафонова, Т.А. Состояние местного иммунитета у больных с воспалительными заболеваниями пародонта и его коррекция препаратом «Беталейкин» / Т.А. Сафонова, И.А. Бутюгин, И.И. Долгушин // Актуальные проблемы стоматологии: материалы конф., посвящ. 65-летию ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава и 10-летию ЧООО «Ассоциация стоматологов». – Челябинск, 2009. – С. 41-47.

**6. Сафонова, Т.А. Применение иммуномодулятора беталейкина в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Т.А. Сафонова, И.А. Бутюгин, И.И. Долгушин // Вестник новых медицинских технологий. - 2009. – Т.XVI, № 3. – С. 134-136.**

7. Сафонова, Т.А. Клинико-иммунологическая эффективность применения беталейкина при хроническом генерализованном пародонтите / Т.А. Сафонова, И.И. Долгушин, И.А. Бутюгин // Проблемы стоматологии. – 2009. – № 5. – С. 44-47.