

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

Бутюгин Иван Александрович

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

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

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 β 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- γ , ИЛ-4) и иммуноглобулинов классов А и G в содержимом слюны больных хроническим генерализованным пародонтитом. Доказано положительное влияние рекомбинантного ИЛ-1 β 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 клинико-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 клинико-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 внутривисочных 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-Д₃ 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 санация. 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, С₁, С₃, С₅) 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- γ , 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), χ^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 β с $5,85 \pm 0,92$ до $19,71 \pm 1,22$ пг/мл и ИФН- γ 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 β , ИФН- γ 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- γ 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 ($M \pm m$)

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	$0,28 \pm 0,04$	легкая (n=25)	$0,452 \pm 0,006$	$0,502 \pm 0,08$	$0,498 \pm 0,001$	$0,517 \pm 0,002^*$
		средняя (n=25)	$0,429 \pm 0,09$	$0,619 \pm 0,04$	$0,577 \pm 0,07$	$0,618 \pm 0,05$
IgM, мг/мл	$0,13 \pm 0,04$	легкая (n=25)	$0,025 \pm 0,003$	$0,020 \pm 0,003$	$0,036 \pm 0,001$	$0,023 \pm 0,004$
		средняя (n=25)	$0,03 \pm 0,003$	$0,023 \pm 0,004$	$0,031 \pm 0,055$	$0,029 \pm 0,055$
IgG, мг/мл	$0,08 \pm 0,04$	легкая (n=25)	$0,09 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,011^*$	$0,107 \pm 0,02$	$0,094 \pm 0,02\#$
		средняя (n=25)	$0,107 \pm 0,02$	$0,044 \pm 0,002^*$	$0,11 \pm 0,03$	$0,107 \pm 0,02$
sIgA, мг/л	$302,3 \pm 5,89$	легкая (n=25)	$281,4 \pm 11,27$	$308,86 \pm 13,4^*$	$284,35 \pm 11,7$	$294,1 \pm 12,9\#$
		средняя (n=25)	$137,91 \pm 23,37$	$229,86 \pm 31,3^*$	$166,53 \pm 49,4$	$227,63 \pm 40,3$

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 β и ИФН- γ у больных ХГП легкой степени снижалась в процессе лечения (ИЛ-1 β с $20,13 \pm 0,92$ до $16,4 \pm 0,83$ пг/мл, ИФН- γ 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 β с $20,87 \pm 1,71$ снизилась до $17,5 \pm 1,42$ пг/мл; ИФН- γ 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 β , ИФН- γ через 15 дней наблюдения достоверно снижалась под влиянием проводимого лечения. Например, содержание ИЛ-1 β 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- γ 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 β , ИФН- γ 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 β , ИФН- γ , 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 β , 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 β , ИФН- γ , 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 β , ИФН- γ 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 β , ИФН- γ 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- γ , ИЛ-4 в слюне.

2. При лечении больных ХГП рекомендуем использовать иммунопрепарат «Беталейкин». Рекомендуем проводить инстилляции 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°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.ХVI, № 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.