



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122499** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
A61B 10/00
A61B 5/00
G01N 33/53 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2017 07915</p> <p>(22) Дата подання заявки: 28.07.2017</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.01.2018</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.01.2018, Бюл.№ 1</p>	<p>(72) Винахідник(и): Бичкова Ніна Григорівна (UA), Бичков Олег Анатолійович (UA), Мариніна Олена Іванівна (UA), Андрусенко Алла Сергіївна (UA), Таран Ганна Анатоліївна (UA), Сидорук Тетяна Миколаївна (UA), Мурланова Тетяна Петрівна (UA), Півень Денис Олександрович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ, 01601 (UA)</p>
---	---

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ У ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту у хворих на артеріальну гіпертензію включає визначення концентрації прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β). Концентрацію прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β та додатково інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) визначають до та після лікування в слині і при досягненні їх концентрацій після лікування до значень, які достовірно не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

UA 122499 U

Корисна модель, що заявляється, належить до галузі медицини, зокрема до клінічної імунології, стоматології, терапії, сімейної медицини і призначена для оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту (ГП) у хворих на артеріальну гіпертензію (АГ).

Захворювання пародонту - одна з найбільш складних патологій щелепно-лицьової ділянки. На даний час вони представляють собою не лише загально-медичну, але й соціальну проблему, оскільки характеризуються значною розповсюдженістю у всьому світі, значною втратою зубів у пацієнтів та несприятливим впливом вогнищ пародонтальної інфекції на організм в цілому [1].

За даними ВООЗ захворювання пародонту зустрічається у 65 % дорослого населення більшості розвинутих країн світу і понад 90 % в країнах, що розвиваються. На даний час діє затверджена МОЗ України "Програма стоматологічного здоров'я на 2008-2017 роки", головним спрямуванням якої є стоматологічне здоров'я майбутніх матерів та дітей.

Актуальність теми визначається не лише високою захворюваністю на хронічний ГП, але і його резистентністю до лікування, відсутністю високоефективної терапії, що призводить в кінцевому випадку до швидкої втрати зубів. Поряд з численними поглядами на механізми розвитку хронічного ГП - від "пародонтального синдрому" до специфічного інфекційного захворювання, у патогенезі цього захворювання безсумнівно визначена участь імунних механізмів, зокрема клітинних та гуморальних факторів імунної системи [2,3,4,5].

На фоні зниженої резистентності капілярів пародонту та вторинного фізіологічного імунодефіциту значно підвищується роль місцевих подразнюючих факторів в розвитку патологічного процесу в пародонті. Встановлено кореляційний зв'язок між тяжкістю захворювань пародонту та показниками місцевого секреторного імунітету, які, потенціюючись із стоматологічною патологією, сприяють запуску основних імунних механізмів системної запальної реакції і які можна характеризувати як місцевий фізіологічний імунодефіцит [2, 3, 4, 5].

Останнім часом з'явилися дані, які розкривають взаємозв'язок між запальними захворюваннями ротової порожнини і захворюваннями серцево-судинної системи, зокрема з атеросклерозом та захворюваннями, які пов'язані з ним. Так, показано, що захворювання періодонта є джерелом хронічного запалення і виступають як незалежний фактор ризику виникнення ішемічної хвороби серця (ІХС). Обстеження хворих на ІХС та пацієнтів, які перенесли інфаркт міокарда, показує, що близько 75 % мають захворювання ротової порожнини, а частота виявлення захворювань пародонту у всіх вікових групах становить 55-99 % [6]. Згідно з сучасними даними, постійно персистуюча оральна мікробіота може викликати розвиток атеросклерозу двома шляхами: прямим - бактерії через кровотік проникають в ендотелій судин, викликаючи ендотеліальну дисфункцію, запалення і атеросклероз, і/або опосередкованим - через стимулювання продукції медіаторів з атерогенними та прозапальними системними ефектами. В свою чергу, важливо відзначити, що широке застосування базисних препаратів, а також інтервенційних та хірургічних методів лікування ІХС до сьогоденного дня не вирішило проблеми ефективного контролю стенокардії. Навіть у пацієнтів, які перенесли аортокоронарне шунтування або стентування вінцевих артерій, симптоми ішемії в тій чи іншій мірі зберігаються, а атеросклеротичний процес прогресує. Тому необхідні подальший пошук і розробка профілактичних і лікувальних заходів, які будуть орієнтуватися не тільки на клінічні прояви, але й на фактори ризику та механізми, що лежать в основі розвитку захворювання [6].

Встановлено, що при ГП в імунній системі спостерігається зниження кількості CD 3+, CD 4+, CD 8+ лімфоцитів, що призводить до формування аутоімунних порушень і супроводжується гальмуванням синтезу Ig G та компенсаторною активацією NK-ланки імунної відповіді, а також суттєвими змінами цитокінового профілю - підвищенням концентрації прозапальних ФНП- α та ІЛ-1 β , які також можуть виступати прогностичними маркерами тяжкого перебігу захворювання [6].

У хворих на артеріальну гіпертензію (АГ) також наявні підвищений рівень прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-1, ІЛ-2, ФНП- α , С-реактивний протеїн (СРП) та підвищений рівень молекул адгезії, які впливають на стан мікроциркуляції, периферичну та каротидну гемодинаміку, сприяють погіршенню перебігу та виникненню ускладнень АГ з розвитком вторинної імунної недостатності [7].

На даний час відомі лише поодинокі роботи, в яких наведено результати дослідження рівня різних цитокінів в сироватці крові та ротовій рідині у хворих на ГП з АГ. Існуючі на даний час способи оцінки ефективності лікування ГП у хворих на АГ не дозволяють повною мірою оцінити результат проведеного лікування.

Відомий спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту [8], що включає дослідження крові і оцінку імунного статусу: визначення кількості Т- та В-лімфоцитів, NK-клітин,

T-хелперів та T-супресорів. Зниження кількості T-лімфоцитів, T-хелперів та NK-клітин служило основою для призначення імунокоректора T-активіну.

Проте даний спосіб є недостатньо точним, оскільки він ґрунтується на візуальній оцінці клінічного стану пародонту та потребує повторного проведення імунограми для визначення змін імунологічних показників після проведеного лікування і не враховує наявність артеріальної гіпертензії у хворих. Не завжди можливо вибрати один показник, який би інформативно відображав динаміку процесу та ефективність лікування, крім того, оцінка імунного статусу є трудомістким та тривалим у виконанні способом (5 днів) і потребує значних коштів на реактиви [8].

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є "Спосіб корекції мукозального імунітету ротової порожнини у хворих на генералізований парадонтит, що підлягають дентальній імплантації" [9], вибраний як найближчий аналог, який включає дослідження крові і ґрунтується на визначенні в сироватці крові вмісту прозапальних цитокінів (ФНП- α та ІЛ-1 β) та протизапального ІЛ-10, а також клінічного результату, отриманого на основі застосування препарату Тимоген у хворих на ГП.

Недоліком наведеного найближчого аналога [9] є те, що оцінити повною мірою ефективність проведеного лікування ГП у хворих на АГ неможливо, оскільки він не враховує наявність основної соматичної патології у обстежених хворих - артеріальної гіпертензії, перебіг якої супроводжується підвищеним рівнем прозапальних цитокінів - ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8.

В основу корисної моделі поставлена задача створення способу оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту у хворих на артеріальну гіпертензію, шляхом дослідження слини і визначення в ній концентрації прозапальних цитокінів - ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та протизапального інтерлейкіну ІЛ-4 і за зміною їх концентрації після проведеного лікування оцінити його ефективність та досягти технічного результату.

Технічний результат полягає в тому, що на основі динаміки концентрацій прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) досягається зменшення активності системного запального процесу при артеріальній гіпертензії та місцевого запалення при генералізованому пародонтиті, які пов'язані між собою, що дозволяє чітко оцінити ефективність лікування генералізованого пародонтиту у хворих на артеріальну гіпертензію.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту у хворих на артеріальну гіпертензію, що включає визначення концентрації прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), згідно з корисною моделлю, концентрацію прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β та додатково інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) визначають до та після лікування в слині і при досягненні їх концентрацій після лікування до значень, які достовірно не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

Відмінною особливістю способу, що заявляється, є використання як маркера ефективності проведеного лікування ГП у хворих на АГ динаміки концентрації прозапальних цитокінів - ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та протизапального ІЛ-4, які мають патогенетичне значення в перебігу як ГП, так і АГ, нормалізація рівня яких є свідченням його ефективності та співпадає з покращенням клінічного стану пацієнтів.

За доступними літературними даними такий спосіб оцінки ефективності лікування ГП у хворих на АГ не відомий.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином. Для проведення дослідження у хворих на АГ із ГП до та після лікування натщесерце збирають слину в кількості 5 мл. В досліджуваній слині до та після лікування визначають вміст ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-4 за допомогою сертифікованих в Україні наборів реагентів для імуноферментного аналізу Pro Con ТОВ "Протеиновый контур".

Стандартний протокол аналізу.

1. В лунки планшета А1-Д1 вносять по 100 мкл стандартів ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-4 із відомою концентрацією, в лунку Е1 вносять 100 мкл буфера (нульовий стандарт), в решту лунок вносять по 100 мкл слини для тестування.

2. Інкують 1 годину при $t+37^{\circ}\text{C}$ при безперервному струшуванні.

3. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою.

4. В кожну лунку вносять по 100 мкл розчину вторинних антитіл.

5. Інкують 1 годину при $t+37^{\circ}\text{C}$ при безперервному струшуванні.

6. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою.

7. В кожну лунку планшета вносять по 100 мкл розчину кон'югату стрептавідину з пероксидазою хрому. Інкують 30 хвилин при $t+37^{\circ}\text{C}$ при безперервному струшуванні.

8. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою. Осушують планшет.

5 9. В усі лунки вносять розчин субстрату із фарбником. Інкують 20 хвилин при кімнатній температурі в місці, захищеному від прямих сонячних променів.

10. Зупиняють реакцію внесенням в кожну лунку по 50 мкл розчину сірчаної кислоти.

11. Виконують облік реакції за допомогою автоматичного фотометру при довжині хвилі 450 нм.

10 Конкретні приклади виконання.

Приклад 1. Хвора К., 48 р. Хворіє на артеріальну гіпертензію I стадії протягом 4 років. Звернулася зі скаргою на свербіж та кровоточивість ясен. Об'єктивне обстеження: в порожнині рота відмічається гіперемія, набряк міжзубних ясенних сосочків на нижній щелепі. На зубах - незначні зубні відкладення. Слизова оболонка порожнини рота блідо-рожевого кольору. Індекс гігієни за Федоровим-Володкіною становив 2,37, папілярно-маргінально-альвеолярний індекс (індекс ПМА) - 31,3 %. Глибина пародонтальних кишень у межах 1-3 мм, вони заповнені незначною кількістю серозно-гнійного ексудату. Діагноз: генералізований пародонтит, I ступінь, хронічний перебіг. Через 4 сеанси лікування відмічене значне зменшення рівня запалення в яснах: проба Шіллера-Писарева негативна, індекс гігієни за Федоровим - Володкіною становив 1,5, індекс ПМА - 10,7 %. Отримані результати свідчать про ефективність запропонованого медикаментозного способу лікування захворювань пародонту, зокрема генералізованого пародонтиту.

25 В імунограмі рівень ФНП- α до лікування - 8,90 пг/мл, після лікування - 1,7 пг/мл, рівень ІЛ-1 β до лікування - 23,8 пг/мл, після - 8,3 пг/мл, концентрація ІЛ-6 до лікування - 7,6 пг/мл, після лікування - 3,1 пг/мл., рівень ІЛ-4 до лікування - 1,4 пг/мл, після лікування - 3,8 пг/мл.

Приклад 2. Хворий С, 58 р. Хворіє на артеріальну гіпертензію II стадії протягом 13 років. Звернувся зі скаргою на значну кровоточивість ясен, свербіж, болючість в яснах, також на болючість в кутах рота. Об'єктивне обстеження: в порожнині рота відмічається дифузна гіперемія, набряк міжзубних ясенних сосочків на нижній щелепі. Слизова оболонка порожнини рота блідо-рожевого кольору. Індекс гігієни за Федоровим-Володкіною становив 2,83, індекс ПМА - 42 %. Глибина пародонтальних кишень у межах 2-3 мм, вони заповнені значною кількістю серозно-гнійного ексудату. Діагноз: генералізований пародонтит II ступеню тяжкості (середньотяжкий), загострений перебіг. Через 4 сеанси лікування відмічене значне зменшення рівня запалення в яснах: проба Шіллера-Писарева негативна, індекс гігієни за Федоровим-Володкіною становив 1,5, індекс ПМА - 15 %. Отримані результати свідчать про ефективність запропонованого медикаментозного способу лікування захворювань пародонту, зокрема генералізованого пародонтиту.

40 В імунограмі рівень ФНП- α до лікування - 12,2 пг/мл, після лікування - 2,8 пг/мл, рівень ІЛ-1 β до лікування - 25,6 пг/мл, після - 6,9 пг/мл, концентрація ІЛ-6 до лікування - 9,1 пг/мл, після лікування - 3,2 пг/мл., рівень ІЛ-4 до лікування - 0,95 пг/мл, після лікування - 3,6 пг/мл.

Проведені дослідження після етапу лікування показали достовірне зниження концентрації ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та зростання вмісту ІЛ-4 в групі хворих на ГП із АГ.

Статистична обробка отриманих результатів виконана на персональному комп'ютері з використанням пакету прикладних програм Microsoft XP "Excel".

45 По запропонованому способу було обстежено 97 хворих на АГ із ГП різного ступеня тяжкості і отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу (табл. 1, 2). Контрольну групу склали 34 здорові особи, рандомізовані за віком та статтю. Ступінь тяжкості ГП визначали за класифікацією захворювань пародонту М.Ф. Данилевського, 2000 р. [1]. Лікування ГП проводили шляхом професійного чищення зубів, повного видалення зубних відкладень та інших факторів, пошкоджуючих пародонт зубів нижньої та верхньої щелепи. Для нормалізації біоценозу порожнини рота призначали "Симбітер ацидофільний" по 1 флакону на добу під час/після їжі. Місцево застосовували "Сангвіритрин" у вигляді полоскань та для інстиляції в пародонтальну кишеньку в співвідношенні 1:5 з персиковою олією. З метою зменшення запальних проявів для стимуляції епітелізації та регенерації призначали вітамін А та його похідні, комбінації вітамінів Е, А, К, олії шипшини, обліпіхи. Діагноз артеріальної гіпертензії та її стадія встановлювався згідно до Наказу № 436 від 03.07.2006 року та Наказу № 384 від 24.05.2012 року. Ступінь підвищення АТ, рівень ризику розвитку серцево-судинних ускладнень встановлювався згідно рекомендацій Асоціації кардіологів України 2008 та 2010 року. Лікування хворих на АГ проводилось згідно з Наставною та клінічним протоколом надання допомоги

хворим з артеріальною гіпертензією [10]. Імунологічне обстеження проводилося двічі: До лікування та через 3 місяці лікування.

- 5 Проведені дослідження показали зниження рівня прозапальних цитокінів та підвищення протизапального ІЛ-4, що клінічно виявлялося у вигляді досягнення клінічної ремісії ГП. Динаміка рівня основних про- та протизапальних цитокінів у хворих на ГП легкого (I) та середнього ступеню (II) тяжкості наведена в табл. 1 та 2.

Таблиця 1

Вміст інтерлейкінів у слині хворих на АГ із ГП легкого ступеня тяжкості в динаміці комплексної терапії (M±m)

Показник	До лікування (n=46)	Після лікування (n=46)	Контрольна група (n=34)
ФНП-α, пг/мл	8,24±0,45*	1,95±0,25**	1,69±0,08
ІЛ-1β, пг/мл	23,79±1,26*	7,19±0,74**	5,73±0,32
ІЛ-6, пг/мл	7,53±0,39*	3,27±0,41**	2,66±0,15
ІЛ-4, пг/мл	1,48±0,07*	3,64±0,19**	3,95±0,21

Примітки: * - достовірність різниці показників порівняно з контрольною групою (p<0,05); ** - достовірність різниці показників до та після лікування (p<0,05); n - кількість хворих.

Таблиця 2

Вміст інтерлейкінів у слині хворих на АГ із ГП середнього ступеня тяжкості в динаміці комплексної терапії (M±m)

Показник	До лікування (n=58)	Після лікування (n=58)	Контрольна група (n=34)
ФНП-α, пг/мл	11,35±1,15*	2,15±0,25**	1,69±0,08
ІЛ-1β, пг/мл	25,41±1,72*	7,39±0,81**	5,73±0,32
ІЛ-6, пг/мл	9,25±0,93*	3,48±0,45**	2,66±0,15
ІЛ-4, пг/мл	1,09±0,04*	3,55±0,14**	3,95±0,21

Примітки: * - достовірність різниці показників порівняно з контрольною групою (p<0,05); ** - достовірність різниці показників до та після лікування (p<0,05); n - кількість хворих.

- 10 Таким чином, за допомогою способу, що заявляється, чітко простежується динаміка рівня про- та протизапальних цитокінів в процесі лікування, яка, відповідно, є як свідченням зменшення активності системного запального процесу, так і підтвердженням діагностичної цінності даних показників.

- 15 Перевагою запропонованого способу є те, що він є неінвазивним завдяки використанню слини в якості досліджуваного матеріалу, дозволяє чітко оцінити зменшення запального процесу, підтверджує досягнення клінічної ремісії ГП у хворих на АГ, є точним та високоінформативним.

Джерела інформації:

- 20 1. Данилевский Н.Ф. Заболевания пародонта / Н.Ф. Данилевский, А.В. Борисенко. - К.: Здоров'я, 2000. - 462 с.

2. Кайдашев І.П. Характеристика імунних клітин слизової оболонки ясен при хронічному генералізованому пародонтиті відповідно ступенів тяжкості / І.П. Кайдашев, В.І. Шинкевич // Імунологія та алергологія. - 2004. - № 3-4. - С. 14-22.

- 25 3. Шинкевич В.І. Стан локального імунітету слизової оболонки порожнини рота при хронічному генералізованому пародонтиті / В.І. Шинкевич // Школа молодих вчених "Сучасні аспекти клінічної імунології та алергології". - Полтава: Проблеми екології та медицини, 2003. - Т.7, № 5-6. - С. 38-39.

4. Гавриляк Г.Є. Імунологічні аспекти генералізованого пародонтиту: літературний огляд / Г.Є. Гавриляк // Практична медицина. - 2002. - № 3. - С. 12-17.

- 30 5. Гавриляк Г.Є. Імунологічні зміни при генералізованому пародонтиті та мультилінійна регресія / Г.Є. Гавриляк // Імунологія та алергологія. - 2008. - № 3. - С. 71-76.

6. Скочко О.В. Взаимосвязь заболеваний пародонта с факторами риска развития ишемической болезни сердца /О.В. Скочко, Т.В. Мамонтова, Л.Э. Веснина, И.П. Кайдашев // Український кардіологічний журнал. - 2015. - № 2. - С. 87-94.

5 7. Association between prehypertension status and inflammatory markers related to atherosclerotic disease: The ATTICA Study /C. Chrysohoou, C. Pitsavos, D.B. Panagiotakos [et al.] // Am. J. Hypertens. - 2004. - Vol. 17, № 7. - P. 568-573.

8. Использование иммунологических показателей для оценки тяжести течения пародонтита и эффективности лечения / Н.Н. Бажанов, Г.П. Тер-Асатуров, В.Ю. Касин [и др.] //Стоматология. - 1996. - Т. 75. - № 1. - С. 15-18.

10 9. Патент № 17763, А61К 31/00 МПК (2006) Спосіб корекції мукозального імунітету ротової порожнини у хворих на генералізований пародонтит, що підлягають дентальній імплантації / Мудра В.М., Фролов В.М.; заявник та патентовласник Мудра В.М., Фролов В.М. № u200603681; заявл. 04.04.2006; опубл. 16.10.2006, Бюл. № 10, 2006. – 10 с.

15 10. Настанова та клінічний протокол надання медичної допомоги "Артеріальна гіпертензія". - К., 2012. - 107 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту у хворих на артеріальну гіпертензію, що включає визначення концентрації прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну- 1β (ІЛ- 1β), який **відрізняється** тим, що концентрацію прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ- 1β та додатково інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) визначають до та після лікування в слині і при досягненні їх концентрацій після лікування до значень, які достовірно не відрізняються від норми, оцінюють лікування як

25 ефективне.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601