



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122500** (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 07916</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), Мариніна Олена Іванівна (UA), Андрусенко Алла Сергіївна (UA), Мурланова Тетяна Петрівна (UA), Коротя Микола Васильович (UA), Кабанчук Сергій Вікторович (UA), Солонько Ірина Іванівна (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 ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ, АСОЦІЙОВАНИЙ ІЗ РЕЦИДИВУЮЧОЮ ГЕРПЕТИЧНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит, асоційований з рецидивуючою герпетичною інфекцією включає дослідження крові. До та після лікування в сироватці крові визначають концентрацію прозапальних цитокінів фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерферону- γ (ІФН- γ), інтерлейкіну-17Л (ІЛ-17А), інтерлейкіну-18 (ІЛ-18) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4). При досягненні їх концентрацій після лікування до значень, які достовірно не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

UA 122500 U

Корисна модель, що заявляється, належить до галузі медицини, зокрема до стоматології та клінічної імунології, і призначена для оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит, асоційований із рецидивуючою герпетичною інфекцією.

Одне з провідних місць в структурі запальних захворювань пародонту займає пародонтит. Причиною виникнення цього захворювання є функціональні порушення в імунній системі, які, в свою чергу, призводять до персистенції запального інфільтрату в тканинах пародонта, що спричиняє виникнення хронічного запалення [1, 2]. Вагоме місце у вивченні патогенезу пародонтиту займає дослідження стану механізмів місцевого захисту порожнини рота, який визначає перебіг та ступінь тяжкості даного захворювання. Місцева імунореактивність пов'язана з індукцією продукції прозапальних цитокінів, активацією хемоатрактантів та залученням прозапальних клітин. Але дані про патологічні зміни системного клітинного імунітету поодинокі та мають суперечливий характер. Дані про зв'язок місцевого та системного клітинного імунітету при пародонтиті практично відсутні, і, таким чином, питання про імунопатогенез даного захворювання залишається недостатньо вивченим [3, 4, 5, 6].

Важливе значення останнім часом в ускладненні перебігу генералізованого пародонтиту та недостатній ефективності його лікування приділяється ролі рецидивуючої герпетичної інфекції, яка надзвичайно часто персистує на ураженій слизовій оболонці порожнини рота і може розглядатись як один із важливих етіологічних чинників при захворюваннях тканин пародонту [3]. Герпетична інфекція (ГІ) віднесена Європейським регіонарним бюро ВООЗ до групи найпоширеніших неконтрольованих інфекцій людини у світі [7, 8, 9]. Лікування хворих на рецидивуючу ГІ є складним процесом як внаслідок відсутності чіткого розуміння окремих патогенетичних механізмів захворювання, частого рецидивуючого перебігу, так і в зв'язку із недостатністю високоефективних та доступних протигерпетичних хіміопрепаратів в системі практичної охорони здоров'я. Відкриті за допомогою методів молекулярної біології механізми реплікації вірусу простого герпесу (ВПГ), а також вивчення взаємодії герпесвірусів із чутливими до них клітинами дозволило впродовж останніх 30 років створити цілу низку ефективних хіміотерапевтичних препаратів, які володіють протигерпетичною активністю. Клінічний досвід їх використання показав, що вони швидко та ефективно ліквідують гострі клінічні прояви ГІ, проте не попереджують повторних рецидивів хронічної герметичної інфекції, а в ряді випадків - навіть не зменшують частоту рецидивів. Враховуючи, що при герпесі, як і при інших хронічних інфекціях із тривалою персистенцією вірусу, розвивається імунодефіцитний стан, обумовлений ураженням декількох ланцюгів імунної системи, для підвищення ефективності лікування в схему терапії слід включати імунотропні препарати, які б сприяли корекції імунного статусу хворого, а також патогенетичні засоби, які покращують стан пацієнта і сприяють більш дієвому використанню вищезазначених препаратів [8, 9].

Особливо складним є лікування рецидивуючої герпетичної інфекції у хворих на генералізований пародонтит за умови їх поєднання, коли створюються сприятливі умови для постійної персистенції вірусно-бактеріальної мікрофлори та поглиблення вторинного імунодефіцитного стану слизової оболонки рогової порожнини на фоні основного захворювання. При цьому призначення специфічних протигерпетичних препаратів даній категорії пацієнтів повинне не лише зменшити частоту загострень інфекції вірусу простого герпесу та їх важкість, але й не обтяжувати перебіг основного захворювання - генералізованого пародонтиту.

На даний час існує лише незначна кількість наукових робіт, в яких висвітлюється стан імунної системи організму при персистенції рецидивуючої герпетичної інфекції, а при захворюваннях пародонту - лише поодинокі [3, 4, 6].

Все це свідчить про актуальність даної проблеми і необхідність розробки інформативного методу оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит при персистенції рецидивуючої герпетичної інфекції.

Відомий спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту [4], що включає дослідження крові і оцінку імунного статусу: визначення кількості Т- та В-лімфоцитів, NK-клітин, Т-хелперів та Т-супресорів. Зниження кількості Т-лімфоцитів, Т-хелперів та NK-клітин служило основою для призначення імунокоректора Т-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 персистенції рецидивуючої герпетичної інфекції 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 [4].

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є "Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту" [10], вибраний як найближчий аналог, який включає дослідження крові і ґрунтується на визначенні в сироватці крові концентрації та розміру циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) до та після лікування і при збільшенні концентрації ЦІК великого розміру та зменшенні концентрації ЦІК середнього та малого розміру оцінюють лікування як ефективне.

Недоліком наведеного найближчого аналога [10] є те, що оцінити повною мірою ефективність проведеного лікування ГП, асоційованого із рецидивуючою герпетичною інфекцією, не можливо, оскільки він не враховує той факт, що персистенція рецидивуючої герпетичної інфекції завжди супроводжується підвищеним рівнем прозапальних цитокінів в сироватці крові.

В основу корисної моделі поставлена задача створення способу оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту, асоційованого із рецидивуючою герпетичною інфекцією, шляхом визначення в сироватці крові до та після лікування концентрації прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерферону- γ (ІФН- γ), інтерлейкіну-17А (ІЛ-17А), інтерлейкіну-18 (ІЛ-18) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) і при досягненні їх концентрацій після лікування до значень, які достовірно не відрізняються від норми, оцінити ефективність лікування 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), інтерферону- γ (ІФН- γ), інтерлейкіну-17А (ІЛ-17А), інтерлейкіну-18 (ІЛ-18) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) досягається зменшення активності системного запального процесу при персистенції рецидивуючої герпетичної інфекції та місцевого запалення при генералізованому пародонтиті, які пов'язані між собою, що дозволяє чітко оцінити ефективність лікування генералізованого пародонтиту, асоційованого із рецидивуючою герпетичною інфекцією.

Поставлена задача вирішується тим, що "Спосіб оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит, асоційований із рецидивуючою герпетичною інфекцією" включає дослідження крові і згідно з корисною моделлю визначають до та після лікування в сироватці крові концентрації прозапальних цитокінів фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерферону- γ (ІФН- γ), інтерлейкіну-17А (ІЛ-17А), інтерлейкіну-18 (ІЛ-18) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) 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, асоційованого із рецидивуючою герпетичною інфекцією, динаміки концентрацій прозапальних цитокінів - ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІФН- γ , ІЛ-17А, ІЛ-18 та протизапального ІЛ-4, які мають патогенетичне значення в перебігу як ГП, так і рецидивуючої герпетичної інфекції, і нормалізація рівня яких є свідченням його ефективності та співпадає з покращенням клінічного стану пацієнтів.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином. Для проведення дослідження у хворого беруть кров (венозну) до та після лікування в кількості 5 мл. Кров центрифугують при 1500 об./хв. протягом 10 хвилин і після цього - знімають сироватку крові. В досліджуваній сироватці крові до та після лікування визначають вміст прозапальних цитокінів - ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІФН- γ , ІЛ-17А, ІЛ-18 та протизапально ІЛ-4 за допомогою сертифікованих в Україні наборів реагентів для імуноферментного аналізу Pro Con "Протеїновий контур".

Стандартний протокол аналізу.

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

2. Інкують 1 годину при 11 37 °С 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 °С 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 хрону. Інкують 30 хвилин при t+37 °С при безперервному струшуванні.

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

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 50 мкл розчину сірчаної кислоти.

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

Конкретний приклад виконання:

Хвора В., 56 років, скаржиться на рухливість фронтальної групи зубів верхньої та нижньої щелепи, кровоточивість ясен під час їжі та при чищенні зубів. При обстеженні виявлена гіперемія сосочкової та маргінальної частини слизової оболонки ясен. Кровоточивість при зондуванні, рухливість зубів I ступеня. Встановлено діагноз - генералізований пародонтит I-II ступеню тяжкості, хронічний перебіг.

Рецидивуюча герпетична інфекція (РГІ) проявлялася наявністю активної реплікації вірусу простого герпесу (ВПГ) 1 типу в слині та рівнем специфічних Ig M до ВПГ в сироватці крові титр 1:100 та специфічних IgG до ВПГ - титр 1:3200. Для лікування РГІ хвора отримувала ацикловір по 200 мг 5 разів на день впродовж 5 днів, тилорон по 125 мг в перші дві доби, потім через 48 годин по 125 мг, курс лікування 2,5 г; та імунофан по 1 мл підшкірно через день, курс 10 ін'єкцій.

В імунограмі рівень ФНП-α в сироватці крові до лікування - 139 пг/мл, після лікування 47 пг/мл, рівень ІЛ-1β до лікування - 123 пг/мл, після лікування 45 пг/мл, сироваткова концентрація ІЛ-6 до лікування - 97 пг/мл, після лікування - 15 пг/мл. концентрація ІФН-γ до лікування - 43 пг/мл, після лікування - 108 пг/мл. концентрація ІЛ-17А до лікування - 125 пг/мл, після лікування - 29 пг/мл, концентрація ІЛ-18 до лікування - 289 пг/мл, після лікування - 170 пг/мл, концентрація ІЛ-4 до лікування - 15 пг/мл, після лікування - 21 пг/мл.

Проведені дослідження після етапу лікування показали достовірне зниження рівня прозапальних цитокінів у групі хворих на ГП при персистенції рецидивуючої герпетичної інфекції та підвищення сироваткової концентрації ІФН-γ та протизапального ІЛ-4. Поряд з цим, спостерігалось покращення клінічного стану хворих - зменшувався набряк, почервоніння та кровоточивість ясен, кількість ексудату у пародонтальних кишнях та їх глибина, рухливість зубів, болісні відчуття в них при жувальному навантаженні, об'єктивно - показники гінгівальних та пародонтальних індексів достовірно показують зниження ступеня інтенсивності запальною процесу в яснах.

По запропонованому способу було обстежено 87 хворих на генералізований пародонтит, асоційований із рецидивуючою герпетичною інфекцією, і отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу в порівнянні зі способом прототипом. Контрольну групу склали 36 здорових осіб, співставляваних за віком та статтю. Діагноз генералізованого пародонтиту встановлювали на основі клінічних, лабораторних, інструментальних і функціональних методів дослідження. 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 кишню в співвідношенні 1:5 з перськовою олією. З метою зменшення запальних проявів для стимуляції епітелізації та регенерації призначали вітамін А та його похідні, комбінації вітамінів Е, А, К, олії шипшини, обліпихи.

Імунологічне обстеження проводилось двічі: до лікування та через 1 місяць терапії.

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

Зміна рівня цитокінів в динаміці лікування наведена в таблиці.

Таблиця

Вміст інтерлейкінів у сироватці крові хворих на генералізований пародонтит, асоційований із рецидивуючою герпетичною інфекцією (РГІ), в динаміці лікування (M±m)

Показники	До лікування (n=87)	Після лікування (n=87)	Контрольна група (n=36)
ФНП-α, пг/мл	114,26±5,21*	41,57±2,18**	42,31±2,12
ІЛ-1β, пг/мл	107,83±4,91*	40,69±2,85**	39,42±1,97
ІЛ-6, пг/мл	92,52±4,19*	11,93±0,78**	10,31±0,72
ІФН-γ пг/мл	41,75±2,34*	125,74±6,15**	86,34±5,12
ІЛ-17А, пг/мл	153,29±8,65*	26,81±1,34**	17,90±0,86
ІЛ-18, пг/мл	303,48±25,17*	174,31±12,70**	160,52±21,63

Продовження таблиці

Показники	До лікування (n=87)	Після лікування (n=87)	Контрольна група (n=36)
ІЛ-4, пг/мл	17,59±0,84*	24,37±1,25**	25,42±3,30

Примітки: * достовірність різниці показників порівняно з контрольною групою ($p \leq 0,05$),

** - достовірність різниці показників до та після лікування ($p \leq 0,05$)

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

Перевагою запропонованого способу є те, що він дозволяє чітко оцінити зменшення активності запальної процесу, підтверджує покращення клінічного стану хворих, є високоінформативним, дозволяє чітко оцінити клініко-імунологічну ефективність лікування пацієнтів.

Джерела інформації:

1. 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.

2. 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.- 1.7, № 5-6. - С. 38-39.

3. Бичкова Н.Г. Імунний статус хворих на хронічний пародонтит при супутній хронічній персистуючій вірусній інфекції / Н.Г. Бичкова, Н.М. Юнакова, Т.М. Волосовець, Г.І. Бернадська // Імунологія та алергологія: наука і практика, 2012. - № 2. - С. 63-67.

4. Бажанов Н.Н. Использование иммунологических показателей для оценки тяжести течения пародонтита и эффективности лечения / Н.Н. Бажанов, Г.П. Тер-Азатуров, В.К). Кассин // Стоматология. 1996. - Т. 75, № 1. - С. 15-18.

5. Грудянов А.И. Заболевания пародонта / А.И. Грудянов / М.: Медицинское информационное агенство, 2009. - 328 с.

6. Московский А.В. Комплексное исследование клинического и иммунного статуса при осложненном кариесе и пародонтите / А.В. Московский // Здоровоохранение Чувашии, 2010. - № 1. - С. 25-28.

7. Дидковский Н.А. Актуальные вопросы тяжелой герпетической инфекции у взрослых / Н.А. Дидковский, И.К. Малашенкова, Ж.Ш. Сарсания // Лечащий врач. - 2006. - № 9. - С. 8-13.

8. Исаков В.А. Современная терапия герпесвирусных инфекций: Руководство для врачей / В.А. Исаков, С.А. Сельков, Л.К. Мошетьова, Г.М. Чернакова / СПб.-М., 2004. - 168 с.

9. Латышева Т.В. Герпесвирусная инфекция в конце XX века / Т.В. Латышева, Л.М. Хутиева / ГНЦ РФ Институт иммунологии МЗ РФ. - М., 2006. - 72 с.

10. Патент № 60200 А, G01N 33/53. Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонти ту / Ю.В. Чаленко, Н.Г. Бичкова, заявник та патентовласник Національний медичний університет імені О.О. Богомольця 2003021801, заявл. 28.02.2003, опубл. 15.09.2003, Бюл. № 9, 2003. - 6 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит, асоційований з рецидивуючою герпетичною інфекцією, що включає дослідження крові, який відрізняється тим, що до та після лікування в сироватці крові визначають концентрацію прозапальних цитокінів фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну- 1β (ІЛ- 1β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерферону- γ (ІФН- γ), інтерлейкіну-17Л (ІЛ-17А), інтерлейкіну-18 (ІЛ-18) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) і при досягненні їх концентрацій після лікування до значень, які достовірно не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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