



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **88053** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/68 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2013 12181</p> <p>(22) Дата подання заявки: 18.10.2013</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.02.2014</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.02.2014, Бюл.№ 4</p>	<p>(72) Винахідник(и): Бичкова Ніна Григорівна (UA), Антоненко Марина Юріївна (UA), Мариніна Олена Іванівна (UA), Борисенко Анатолій Васильович (UA), Кузьміна Інна Станіславівна (UA), Мурланова Катерина Сергіївна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)</p>
---	---

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту включає дослідження слини до та після лікування. Визначають вміст прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4). При зниженні концентрації прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 після лікування та зростанні вмісту протизапального ІЛ-4 до значень, які не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

UA 88053 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема до стоматології та клінічної імунології, і призначена для оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит (ГП).

Захворювання пародонту - одна з найбільш складних патологій щелепно-лицьової ділянки. На даний час вони представляють собою не лише загально-медичну, але й соціальну
5 проблему, оскільки характеризуються значною розповсюдженістю у всьому світі, значною втратою зубів у пацієнтів та несприятливим впливом вогнищ пародонтальної інфекції на організм в цілому [1, 4].

За даними ВООЗ захворювання пародонта зустрічається у 65 % дорослого населення більшості розвинутих країн світу і понад 90 % в країнах, що розвиваються. На даний час діє
10 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 генералізований пародонтит, але і його резистентністю до лікування, відсутністю високоєфективної терапії, що призводить в кінцевому випадку до швидкої втрати зубів. Поряд з
15 численними поглядами на механізми розвитку хронічного генералізованого пародонтиту - від "пародонтального синдрому" до специфічного інфекційного захворювання, у патогенезі цього захворювання безсумнівно визначена участь імунних механізмів, зокрема клітинних та гуморальних факторів імунної системи.

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
20 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].

Встановлено, що при генералізованому пародонтиті 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-
25 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.

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

Так, відомий спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту [6], що включає дослідження крові з оцінкою 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-активіна. Але даний спосіб є недостатньо
35 точним, оскільки він ґрунтується на візуальній оцінці клінічного стану пародонта та потребує повторного проведення імунограми для визначення змін імунологічних показників після проведеного лікування. Проте 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.

Найбільш близьким до запропонованого способу, вибраного як прототип, є "Спосіб корекції мукозального імунітету ротової порожнини у хворих на генералізований пародонтит, що підлягають дентальній імплантації" [7], в якому на основі позитивної динаміки прозапальних (ФНП- α та ІЛ-1 β) та протизапального ІЛ-10, а також клінічного результату, встановлено позитивний ефект застосування препарату Тимоген у хворих на генералізований пародонтит.

Як видно, вищеперераховані способи оцінки, ефективності лікування генералізованого пародонтиту [6,7] дозволяють оцінити клініко-імунологічну ефективність лікування лише за динамікою деяких показників імунного статусу або деяких цитокінів.

Проте вищенаведені способи лікування генералізованого пародонтиту не дають можливості достовірно оцінити ефективність проведеного лікування в зв'язку з чим вирішення проблеми
40 оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту є надзвичайно актуальним.

Задача корисної моделі полягає у створенні способу оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту у хворих із соматичною патологією, який би був точним, інформативним, не інвазивним та дозволив би отримати найбільш достовірні дані, які б сприяли адекватній оцінці результатів проведеного лікування.

Технічний результат, що досягається від вирішення задачі, на відміну від прототипів, наведених вище, полягає у підвищенні точності оцінки ефективності лікування за рахунок дослідження в слині концентрації прозапальних цитокінів - ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-6 і протизапального ІЛ-4 - та можливості призначення в подальшому адекватної терапії.

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

10 За доступними літературними даними такий спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту у хворих із соматичною патологією не відомий.

Поставлена задача вирішується тим, що, у відомому способі, що включає дослідження слини, згідно з корисною моделлю до та після лікування досліджують слину, визначають в ній вміст прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) і при зниженні концентрації прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 після лікування та зростанні вмісту протизапального ІЛ-4 до значень, які не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

Спосіб здійснюється наступним чином.

20 Для проведення дослідження у хворих із генералізованим пародонтитом до та після лікування натщесерце беруть 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 TOB "Протеиновый контур" (Росія).

Стандартний протокол аналізу.

25 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 кожен лунку вносять по 100 мкл розчину вторинних антитіл.

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

35 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 кожен лунку по 50 мкл розчину сірчаної кислоти.

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

Конкретні приклади виконання.

45 Приклад 1. Хвора С, 31 р., 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, І 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.

50 В імунограмі рівень ФНП- α до лікування - 4,90 пг/мл, після лікування - 1,80 пг/мл, рівень ІЛ-1 β до лікування - 13,80 пг/мл, після - 6,30 пг/мл, концентрація ІЛ-6 до лікування - 4,30 пг/мл, після лікування - 2,60 пг/мл., рівень ІЛ-4 до лікування - 1,50 пг/мл, після лікування - 3,70 пг/мл.

Приклад 2. Хворий З., 30 р., звернувся зі скаргою на кровоточивість ясен, свербіж та неприємні відчуття в яснах, також на болючість в кутах рота.

60 Об'єктивне обстеження: в порожнині рота відмічається дифузна гіперемія, набряк міжзубних ясенних сосочків на нижній щелепі. На зубах - незначні зубні відкладення. Індекс гігієни за

Федоровим-Володкіною становив 2,66, індекс ПМА - 37 %. Глибина пародонтальних карманів у межах 1-3 мм, вони заповнені незначною кількістю серозно-гнійного ексудату. Діагноз: генералізований пародонтит, I ступеня тяжкості (легкий), загострений перебіг. Через 4 сеанси лікування відмічене значне зменшення рівня запалення в яснах: проба Шіллера-Писарева негативна, індекс гігієни за Федоровим-Володкіною становив 1,3, індекс ПМА - 12,5 %. Отримані результати свідчать про ефективність запропонованого медикаментозного способу лікування захворювань пародонта, зокрема генералізованого пародонтиту.

В імунограмі рівень ФНП- α до лікування - 6,20 пг/мл, після лікування - 2,10 пг/мл, рівень ІЛ-1 β до лікування - 14,80 пг/мл, після - 6,50 пг/мл, концентрація ІЛ-6 до лікування - 5,00 пг/мл, після лікування - 2,70 пг/мл., рівень ІЛ-4 до лікування - 1,10 пг/мл, після лікування - 3,20 пг/мл.

Приклад 3. Хвора А., 31 р., звернулася 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.

В імунограмі рівень ФНП- α до лікування - 7,90 пг/мл, після лікування - 2,40 пг/мл, рівень ІЛ-1 β до лікування - 18,20 пг/мл, після - 7,10 пг/мл, концентрація ІЛ-6 до лікування - 6,80 пг/мл, після лікування - 3,10 пг/мл., рівень ІЛ-4 до лікування - 0,90 пг/мл, після лікування - 3,10 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 генералізований пародонтит.

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

По запропонованому способу було обстежено 126 хворих на генералізований пародонтит різного ступеня тяжкості, і отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу в порівнянні зі способами-прототипами (табл. 1, 2). Контрольну групу склали 34 здорові особи, співставлювані за віком та статтю. Ступінь тяжкості генералізованого пародонтиту визначали за класифікацією захворювань пародонта М.Ф. Данилевського, 2000 р. [1]. Лікування генералізованого пародонтиту 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 кишеню 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, обліпихи. Імунологічне обстеження проводилося двічі: до лікування та через 1 місяць постійної терапії.

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

Таблиця 1

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

Показник	До лікування (n=68)	Після лікування (n=68)	Контрольна група (n=34)
ФНП-α, пг/мл	5,17±0,29*	2,15±0,25**	1,69±0,08
ІЛ-1β, пг/мл	18,94±0,85*	7,32±0,78**	5,73±0,32
ІЛ-6, пг/мл	4,53±0,25*	2,34±0,12**	2,66±0,15
ІЛ-4, пг/мл	1,62±0,09*	3,45±0,41**	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)

Таблиця 2

Вміст інтерлейкінів у слині хворих на 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	6,51±0,31*	2,27±0,28**	1,69±0,08
ІЛ-1 β, пг/мл	21,59±2,19*	9,26±1,74**	5,73±0,32
ІЛ-6, пг/мл	5,98±0,31*	2,89±0,16**	2,66±0,15
ІЛ-4, пг/мл	1,12±0,07*	3,31±0,45**	3,95±0,21

Примітки: * - достовірність різниці показників порівняно з контрольною групою (p<0,01)

** - достовірність різниці показників до та після лікування (p<0,01)

5 Перевагою запропонованого способу є те, що він є не інвазивним завдяки використанню слини як досліджуваного матеріалу, дозволяє чітко оцінити зменшення запального процесу, підтверджує досягнення клінічної ремісії генералізованого пародонтиту у хворих, є точним, високоінформативним завдяки використанню сертифікованих в Україні та доступних за ціною наборів реагентів виробництва НПО "Протеїновий контур" (РФ-СПб).

Джерела інформації:

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

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

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

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

6. Использование иммунологических показателей для оценки тяжести течения пародонтита и эффективности лечения / Н.Н. Бажанов, Г.П. Тер-Асатуров, В.Ю. Касин [и др.] // 25 Стоматология. - 1996. - Т. 75. - № 1. - С. 15-18.

7. 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. - 10с.

30

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту, що включає дослідження слини, який **відрізняється** тим, що до та після лікування досліджують слину, визначають вміст прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) і при зниженні концентрації прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 після лікування та зростанні вмісту протизапального ІЛ-4 до значень, які не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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