



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77387** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/48** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2012 09667</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>10.08.2012</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>11.02.2013</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>11.02.2013, Бюл.№ 3</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Бичкова Ніна Григорівна (UA), Юнакова Наталія Миколаївна (UA), Мурланова Тетяна Петрівна (UA), Мариніна Олена Іванівна (UA), Тімохіна Тетяна Олександрівна (UA), Мурланова Катерина Сергіївна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)</b></p>
---	---

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ, АСОЦІЙОВАНОГО З ХЛАМІДІЙНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

### (57) Реферат:

Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту, асоційованого з хламідійною інфекцією включає дослідження крові. До та після лікування досліджують сироватку крові, визначають сироватковий вміст прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і при зниженні їх концентрації після лікування до значень, які достовірно не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

UA 77387 U



Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема до стоматології та клінічної імунології, і призначена для оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит, асоційований з хламідійною інфекцією.

5 Захворювання пародонту - одна з найбільш складних патологій щелепно-лицьової ділянки. На даний час вони являють 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 пародонта зустрічається у 65 % дорослого населення більшості розвинутих країн світу і понад 90 % в країнах, що розвиваються.

10 Актуальність теми визначається не лише високою захворюваністю на хронічний генералізований пародонтит, 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 генералізованого пародонтита - від "пародонтального синдрому" до специфічного інфекційного захворювання, у патогенезі цього захворювання безсумнівно визначена участь імунних механізмів, зокрема клітинних та гуморальних факторів імунної системи [2].

20 Важливе значення останнім часом в ускладненні перебігу генералізованого пародонтиту та недостатній ефективності його лікування приділяється ролі хламідійної інфекції, яка розглядається як один із важливих етіологічних чинників при захворюваннях тканин пародонта [3].

Вона належить до "повільних" інфекцій "нового покоління", коли присутність хламідій в організмі тривалий час не проявляється клінічно. Серед них діагностуються *Chlamydia trachomatis* та *Chlamydia pneumoniae*.

25 Особливості патогенезу цієї інфекції - складний життєвий цикл хламідій, внутрішньоклітинне розташування збудника, тривала персистенція в організмі, що спричиняє певні труднощі в діагностиці та розробці лікувально-діагностичних заходів. Особливістю хламідійної інфекції є також і те, що *Chlamydia pneumoniae* та *Chlamydia trachomatis* як внутрішньоклітинні збудники викликають порушення в імунній системі, при цьому і сам перебіг захворювання відбувається на фоні зниження імунологічної реактивності організму [4].

30 Персистуючі форми хламідій можуть знаходитись не лише в епітеліальних клітинах, але і в моноцитах, з якими сягають різних органів та систем в організмі (суглобів, судин і т.д.), викликають колонізацію стінок артерій, дисфункцію ендотелію та експресію молекул адгезії, стимулюють індукцію моноцитів та макрофагів до посиленої продукції прозапальних цитокінів, а при інфікуванні тканин пародонту - здатні викликати часті загострення захворювання за відсутності ефекту від проведеного лікування [3, 4, 5].

35 На даний час існує лише незначна кількість наукових робіт, в яких висвітлюється стан імунної системи організму при персистенції хламідійної інфекції, а при захворюваннях пародонту - лише поодинокі [3, 6-12].

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

На даний час існуючі способи оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит не можуть повною мірою оцінити її за наявності персистенції *Chlamydia pneumoniae* та *Chlamydia trachomatis*.

45 Найближчим аналогом (прототипом) корисної моделі, що заявляється, є спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту [13], який базується на визначенні 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.

50 Проте даний спосіб не дозволяє оцінити ефективність проведеного лікування генералізованого пародонтиту за наявності супутньої хламідійної інфекції.

Відомий також спосіб оцінки ефективності імунотерапії у хворих на бронхообструктивний синдром, що супроводжує БА [14], який базується на визначенні в крові хворих на бронхіальний синдром, що супроводжує БА, вмісту CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ - лімфоцитів, концентрації сироваткових IgG, IgA, IgM та ЦІК і при нормалізації їх рівня після лікування та покращенні клінічного стану хворих судять про ефективність проведеного лікування.

60 Проте даний спосіб дозволяє лише детально оцінити стан імунної системи та визначити тип імунодефіциту у хворих на бронхіальний синдром, що супроводжує БА, і призначити імунокоригуючу терапію на основі визначення індивідуальної чутливості лімфоцитів до імуномодуляторів, але не дозволяє оцінити ефективність призначеного лікування хворим на

генералізований пародонтит при персистенції *Chlamydia pneumonia* та *Chlamydia trachomatis*, яка значною мірою впливає на цитокиновий статус пацієнта.

В зв'язку з вищенаведеним видно, що вирішення проблеми адекватної оцінки ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит, поєднаний з респіраторним та сечостатевою хламідіозом, є надзвичайно актуальним.

Задачею корисної моделі є створення способу оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту, асоційованого з хламідійною інфекцією, який би був точним, інформативним та дозволив отримати найбільш достовірні дані, які б сприяли адекватній оцінці результатів проведеного лікування.

Технічний результат, що досягається від вирішення задачі, на відміну від прототипу, наведеного вище, полягає у підвищенні точності оцінки ефективності лікування за рахунок дослідження в сироватці крові концентрації прозапальних цитокинів - ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6 - та можливості призначення в подальшому адекватної терапії хворим на генералізований пародонтит при персистенції *Chlamydia pneumonia* та *Chlamydia trachomatis*.

Відмінною особливістю способу, що заявляється, є використання як маркера ефективності лікування генералізованого пародонтиту, асоційованого з хламідійною інфекцією, концентрації прозапальних цитокинів - ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6, які мають патогенетичне значення в перебігу генералізованого пародонтиту, і зниження рівня яких співпадає з покращенням клінічного стану пацієнтів.

За доступними літературними даними такий спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту, асоційованого з хламідійною інфекцією, не відомий.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає дослідження крові, згідно з корисною моделлю досліджують до та після лікування сироватку крові, визначають сироватковий вміст прозапальних цитокинів - фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і при зниженні їх концентрації після лікування до значень, які не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

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 ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6 за допомогою сертифікованих в Україні наборів реагентів для імуноферментного аналізу Pro Con TOB "Протеиновый контур" (Росія).

Стандартний протокол аналізу.

1. В лунки планшета А1-Д1 вносять по 100 мкл стандартів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та 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 t+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 хрину. 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 по 50 мкл розчину сірчаної кислоти.

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

Наявність хламідійної інфекції оцінюють за детекцією ДНК *Chlamydia pneumonia* та *Chlamydia trachomatis*, яку проводять в біологічному матеріалі ампліфікаційним методом в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) та визначенням рівня специфічних антихламідіофільних ІgG- та ІgM- антитіл до *Chlamydia pneumonia* та *Chlamydia trachomatis* методом ІФА.

Конкретні приклади виконання.

Приклад 1. Хвора С., 55 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 II ступеня тяжкості, хронічний перебіг.

Титр IgG-антитіл до Chlamydia pneumonia 1:40; титр IgG-антитіл до Chlamydia trachomatis 1:5; Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) «+».

5 В імунограмі рівень ФНП-α в сироватці крові до лікування - 318 пг/мл, після лікування - 64 пг/мл, рівень ІЛ-1β до лікування - 187 нг/мл, після - 51 пг/мл, сироваткова концентрація ІЛ-6 до лікування - 122 пг/мл, після лікування -19 пг/мл.

10 Приклад 2. Хвора К., 48 років. Скаржиться на незначну рухливість фронтальної групи зубів верхньої щелепи, кровоточивість ясен під час приймання грубої їжі та при чищенні зубів. При обстеженні виявлена незначна гіперемія сосочкової та маргінальної частини слизової оболонки ясен, незначна кровоточивість при зондуванні, рухливість зубів I ступеня. Встановлено діагноз - генералізований пародонтит I ступеня тяжкості, хронічний перебіг.

Антитіла IgG до Chlamydia pneumonia не виявлені; антитіла IgG до Chlamydia trachomatis не виявлені; Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) «-».

15 В імунограмі рівень ФНП-α в сироватці крові до лікування - 148 пг/мл, після лікування - 47 пг/мл, рівень ІЛ-1β до лікування - 102 пг/мл, після - 42 пг/мл, сироваткова концентрація ІЛ-6 до лікування - 73 пг/мл, після лікування - 18 пг/мл.

20 Проведені дослідження після етапу лікування показали достовірне зниження рівня прозапальних цитокінів в групі хворих на ГП при персистенції Chlamydia pneumonia та Chlamydia trachomatis.

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

25 По запропонованому способу було обстежено 152 хворих на ГП, серед яких 81 - мали супутню хламідійну інфекцію (ПЛР «+»), а у 71 хворого вона не була виявлена (ПЛР «-»). Контрольну групу склали 30 здорових осіб, співставлюваних за віком та статтю. В комплексне патогенетичне лікування хворих обох груп додатково був включений препарат "Полюоксідоній", який має дезінтоксикаційну, антиоксидантну, мембраностабілізуючу та гепатопротекторну дію. Препарат призначали за схемою: внутрішньом'язово по 0,06 мг на 1 ін'єкцію щоденно протягом 3 діб, а наступні 2 ін'єкції - через день. Курс лікування - 5 ін'єкцій. Пацієнтам із позитивною ПЛР 30 було призначено також антибактеріальну терапію. Отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу в порівнянні зі способом-прототипом (табл.). Імунологічне обстеження проводилося двічі: до лікування та через місяць після проведеної терапії.

35 Зміни рівня прозапальних цитокінів в динаміці лікування наведено в табл.

Таблиця

Вміст інтерлейкінів у сироватці крові хворих на ГП при персистенції хламідійної інфекції в динаміці комплексної терапії (M±m)

Показник	ПЛР «+» (n=81)		ПЛР «-» (n=71)		Контрольна група (n=40)
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	
ФНП-α, пг/мл	301,8±14,25*	49,1±2,83**	124,7±6,51* x	45,2±2,17**	42,31±2,12
ІЛ-1β, пг/мл	162,5±9,12*	45,6±2,41**	94,6±4,38* x	42,7±2,41**	39,42±1,97
ІЛ-6, пг/мл	97,4±5,18*	12,98±1,25**	65,9±3,35* x	10,92±0,63**	10,31±0,52

Примітка: \* - p<0,05 - достовірність різниці показників відносно даних контрольної групи;  
 \*\* - p<0,05 - достовірність різниці показників до та після лікування;  
 x-p<0,05 - достовірність різниці показників між групами хворих за наявності та відсутності хламідійної інфекції;  
 n - кількість хворих.

40 Перевагою запропонованого способу є те, що він дозволяє чітко оцінити зменшення запального процесу, підтверджує покращення клінічного стану пацієнтів, є точним, високоінформативним завдяки використанню сертифікованих в Україні та доступних за ціною наборів реагентів виробництва ТОВ "Протеїновий контур" (РФ-СПб), дозволяє 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.

5 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. - Т.7, № 5-6. - С. 38-39.

3. Жукова М.В. Роль хламидийної інфекції в захворюваннях пародонта / М.В. Жукова, С.І. Тапильская, Л.А. Хациевич // Клиническая стоматология.-2001. - № 3. - С. 30-35.

10 4. Мавров І.І. Хламидиозна інфекція: активне вивчення проблеми / І.І. Мавров // Дерматологія та венерологія.-2001. - № 2. - С. 4-9.

5. Яковлев В.М. Сосудистый эндотелий и хламидийная инфекция / В.М. Яковлев, А.М. Новиков. - М., 2000.-148 с.

15 6. Иванова І.А. Хламидиоз у дітей з переважним проявом в формі респіраторного захворювання / І.А. Иванова, С.І. Казакова // Российский медицинский журнал.- 1998. - № 2. - С. 30-32.

7. Кухтинова Н.В. Анамнестические особенности течения бронхиальной астмы на фоне хламидофильной инфекции / Н.В. Кухтинова, С.М. Гавалов, С.А. Кротов // Астма.-2001.- Т. 2, № 1.- С. 202-203.

20 8. Респіраторний хламідіоз у дітей. Клініка, діагностика та лікування: Метод, рекомендації / Донецький держ. мед. університет ім. М. Горького (Е.І. Юліш, С.О. Крамаєв, І.Г. Самойленко). - Донецьк 2002.-20 с.

9. Поздняк А.Л. Хламидийные поражения дыхательных путей / А.Л. Поздняк, Ю.В. Лобзин, С.Н. Сидорчук [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни.-2002. - № 5.- С. 46-53.

25 10. Гранитов В.М. Хламидиозы / В.М. Гранитов.- М.: Медицина, 2000.-191 с.

11. Марушко Ю.В. Особливості сучасної діагностики захворювань, спричинених бактеріями роду Chlamydia / Ю.В. Марушко, Д.Г. Десятник, Н.Г. Бичкова, Т.В. Марушко // Лікарська справа, 2002. - № 7. – С. 3-6.

30 12. Бичкова Н.Г. Особливості системного імунітету у дітей, хворих на бронхіальну астму при персистенції Chlamydia pneumonia / Н.Г. Бичкова, В.Г. Петриченко, О.В. Лисовець // Імунологія та алергологія.-2008. - № 2. - С. 36-40.

35 13. Патент № 60200, 7 G01N33/53, Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту / 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.

14. Прохорова М.П. Комплексне патогенетичне лікування дітей з бронхообструктивним синдромом: автореф. дис. на здобуття наук, ступеня докт. мед. наук: спец. 14.01.10 "Педіатрія" / М.П. Прохорова. - Київ, 2005.-41с.

#### 40 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб оцінки ефективності лікування генералізованого пародонтиту, асоційованого з хламідійною інфекцією, що включає дослідження крові, який **відрізняється** тим, що до та після лікування досліджують сироватку крові, визначають сироватковий вміст прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну- $1\beta$  (ІЛ- $1\beta$ ) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і при зниженні їх концентрації після лікування до значень, які достовірно не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

---

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

---

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