

А. Ч. Пашаев, К. Ч. Карагезова

Изменение местного иммунитета и уровня провоспалительных цитокинов у пациентов с хронической стоматогенной инфекцией на фоне сочетанного воздействия традиционной терапии и пиобактериофага

Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан

Цель: оценка влияния комплексной медикаментозной терапии хронической стоматогенной инфекции с использованием препарата «Пиобактериофаг местного действия» на изменение уровня секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в ротовой жидкости и провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β и ФНО- α) в крови.

Материал и методы. В обследовании приняли участие 80 пациентов с хронической стоматогенной инфекцией в возрасте от 16 до 69-ти лет, средний возраст 38,5 \pm 12,58 года.

Результаты. В результате проведенного исследования выявлено, что после системной антибиотикотерапии в комплексе с местным традиционным лечением (I группа) и системной антибиотикотерапии с использованием местно пиобактериофага (II группа) у пациентов снижаются исходно высокие уровни цитокинов воспаления – ИЛ-1 β и ФНО- α , причем наиболее выражено спустя 3 мес. после лечения.

Заключение. Проведенные исследования показали, что включение пиобактериофага в комплексную терапию пациентов с хронической стоматогенной инфекцией способствует динамичному снижению провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α , достигая пика через 3 мес. терапии.

Ключевые слова: хроническая стоматогенная инфекция, местный иммунитет, провоспалительные цитокины, терапия, пиобактериофаг.

Введение

Проблема хронических очагов стоматогенного инфицирования полости рта продолжает привлекать внимание стоматологов. Хроническая стоматогенная инфекция – это очаг хронического воспаления в полости рта, в основном околоверхнечелюстные и пародонтальные воспалительные процессы, приводящие к сенсибилизации организма [4, 9, 11]. Длительное существование локального очага инфекции в зубах и периодонте сопровождается повышенной сенсибилизацией – чувствительностью организма к действию того или иного раздражителя. Изменения реактивности организма при очаговой инфекции большинства исследователей связывают с определенными иммунологическими нарушениями [6, 8]. Местный иммунитет имеет большое значение в плане контроля качественного и количественного состава нормальной микрофлоры, ограничения проникновения во внутреннюю среду различных антигенов и предупреждения различных заболеваний [1, 6]. Поэтому изучение местного иммунитета, имеет важное значение для понимания патогенеза заболевания и для обоснованного выбора методов и средств лечения.

Вопросы лечения очагов стоматогенной инфекции полости остаются актуальными проблемами в стоматологии. Это обусловлено постоянным увеличением числа больных, переходом процесса в хроническое течение и короткими сроками ремиссии [1,12]. Развитие воспалительных заболеваний определяется состоянием цитокиновой регуляции, в связи с чем изучение цитокинового статуса позволяет выбрать оптимальную тактику лечения [2, 7].

Рациональный подход к терапии предусматривает ликвидацию всех выявленных очагов инфекции. В случаях, когда выявлены только зубные и пародонтальные очаги, лечение рекомендуют начинать с тех, которые можно устранить консервативно [1, 12]. Ликвидация всех имеющихся стоматогенных очагов инфекции выступает на первый план как этиологическая терапия. Патогенети-

ческая терапия предусматривает применение антибактериальных препаратов с учетом индивидуальной чувствительности организма, общеукрепляющих средств, препаратов для специфической и неспецифической десенсибилизирующей терапии [10, 12]. Однако, несмотря на лечение, не всегда удается сократить количество хронических очагов и снизить число осложнений хронической одонтогенной инфекции.

Целью исследования являлась оценка влияния комплексной медикаментозной терапии хронической стоматогенной инфекции с использованием препарата «Пиобактериофаг местного действия» на изменение уровня секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в ротовой жидкости и провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β и ФНО- α) в крови.

Материал и методы

Исследование проводилось на базе кафедр терапевтической стоматологии и микробиологии и иммунологии Азербайджанского медицинского университета. В обследовании приняли участие 80 пациентов с хронической стоматогенной инфекцией в возрасте от 16 до 69-ти лет, средний возраст 38,5 \pm 12,58 года. Мужчин было 30 (37,5%), женщин 50 (62,5%). Критерием включения являлось наличие первичных очагов хронической стоматогенной инфекции, критериями исключения – наличие хронических очагов лор-органов, в основном хронический тонзиллит и хронический фарингит.

Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц в возрасте от 22 до 61 года, средний возраст 36,7 \pm 9,81 года, мужчины составили 48,0% (12), женщины – 52,0% (13).

Секреторный IgA (sIgA) в ротовой жидкости определяли твердофазным методом иммуноферментного анализа, основанным на принципе «сэндвича». Концентрация sIgA в пробах определяли по калибровочному графику. Калибровочные пробы sIgA стандартизированы

относительно препарата sIgA человека фирмы «JCN» (США). Использован набор «sIgA-ИФА-БЕСТ-стрип» (Новосибирск, Россия).

Концентрации интерлейкина-1бета (ИЛ-1β) и фактора некроза опухоли (ФНО-α) в периферической крови определены методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью коммерческих наборов ProCep (ТОО «Протеиновый контур», Россия, Санкт-Петербург).

Наряду с традиционной антибиотикотерапией был использован препарат «пиобактериофаг-комплексный жидкий», производства ФГУП НПО «Микроген» (Россия). Пиобактериофаг применяли местно в виде аппликаций и медикаментозной обработки каналов, орошение до 200 мл в зависимости от размеров пораженного участка.

В зависимости от примененного вида лечения больные с хронической стоматогенной инфекцией были разделены на 2 группы: I группа (сравнения) – 40 пациентов, которые получали системно антибиотикотерапию наряду с местным традиционным методом лечения; II группа (основная) – 40 пациентов, которые получали системно антибиотикотерапию (в основном цефалоспоринового и ампицилинового ряда), а местно – фаготерапию («пиобактериофаг комплексный жидкий»).

Исследования проводили до лечения, спустя 3 и 6 месяцев после лечения.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием методов оценки достоверности результатов, методов вариационной статистики по стандартным методикам. Определение корреляционной связи проводили, используя линейный коэффициент корреляции Пирсона (r). При значении коэффициента корреляции (r) равного 0,70 и более корреляция считается сильной, при r = 0,30-0,69 – средней и при r < 0,29 корреляция считается слабой. Обработку и анализ полученных данных выполняли на персональном компьютере с использованием прикладных программ Microsoft Office (Excel), пакета статистической программы «Statistica 7.0».

Результаты и обсуждение

До начала лечения содержание sIgA в ротовой жидкости было сниженным у всех обследованных пациентов, причем его концентрация у пациентов I и II группы практически не отличалась и в сравнении с контрольной величиной была достоверно снижена в 1,6 (p < 0,05) и 1,5 раза (p < 0,05) соответственно (рис. 1).

Спустя 3 и 6 мес. после лечения отмечалось достоверное повышение уровня sIgA в обеих группах. У пациентов I и II группы относительно величины, полученной до лечения, уровень sIgA через 3 и 6 мес. повысился в 1,4 (p < 0,05) и 1,3 раза (p < 0,05) соответственно.

Следовательно, повышение концентрации sIgA у пациентов с хронической стоматогенной инфекцией на фоне традиционной антибиотикотерапии и местного применения пиобактериофага существенно не различалось. При этом более выраженное повышение у пациентов обеих групп наблюдалось через 3 мес. после лечения.

Концентрация ИЛ-1β и ФНО-α в крови у пациентов обеих групп до лечения была высокой. Исходный уровень ИЛ-1β и ФНО-α в крови у пациентов I группы превышал контрольный в среднем в 2,6 (p < 0,01) и 2,8 раза (p < 0,01) соответственно. У пациентов II группы концентрация ИЛ-1β и ФНО-α была выше контрольной величины в среднем в 2,6 раза (p < 0,01) соответственно. В результате проведенного исследования установлено, что после лечения у пациентов основной группы (II) и группы сравнения (I) концентрации ИЛ-1β и ФНО-α снижаются по сравнению с исходными показателями, полученными до лечения (табл.).

Как следует из приведенной таблицы, спустя 3 и 6 мес. после лечения содержание ИЛ-1β в крови обследованных лиц I группы по сравнению с исходным показателем снизилось в 1,2 и 1,1 раза соответственно. При этом данные показатели были выше контрольных в 2,2 (p < 0,05) и 2,4 раза (p < 0,01). В эти же сроки отмечалось снижение и ФНО-α. Так, через 3 мес. терапии по сравнению с исходным уровнем этого цитокина снизился в 1,4 раза (p < 0,05), а через 6 мес. в 1,1 раза. Спустя 3 и 6 мес. после лечения содержание ФНО-α по сравнению с контрольной величиной было выше соответственно в 2,0 (p < 0,05) и в 2,4 раза (p < 0,05).

Во II группе наблюдалась схожая с I группой динамика величин провоспалительных цитокинов. У пациентов основной группы уровень ИЛ-1β через 3 мес. по сравнению с исходным снизился в 1,5 раза (p < 0,05), а через 6 мес. – в 1,4 раза (p < 0,05). Концентрация данного

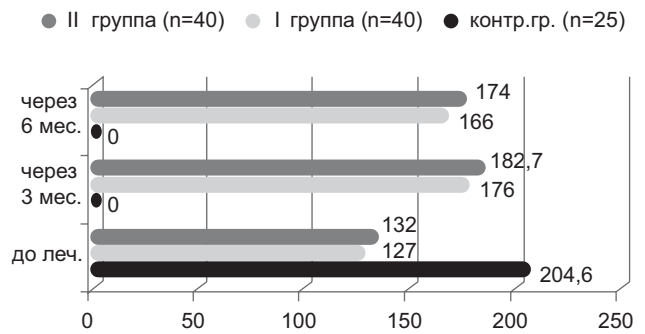


Рис. 1. Изменение уровня sIgA в ротовой жидкости (мкг/мл) у обследованных пациентов на фоне лечения.

Таблица

Динамика концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у больных с хронической стоматогенной инфекцией до и после лечения (M±m)

Группы обследования	Период обследования	ИЛ-1β, пмг/мл	ФНО-α, пмг/мл
I группа (n = 40)	до лечения	115,0±8,68 (101–135)*	124,3±9,06 (102–143)*
	через 3 мес.	94,0±5,83 (79–119)*	91,4±4,31 (74–103)*,**
	через 6 мес.	106,4±5,4 (91–115)*	108,2±2,56 (100–115)*
II группа (n = 40)	до лечения	111,0±11,0 (42–136)*	115,5±10,2 (46–143)*
	через 3 мес.	75,0±6,96 (61–105)*,**	73,3±7,21 (60–99)*,**
	через 6 мес.	80,0±7,23 (71–111)*,**	81,4±9,9 (69–109)*,**
Контрольная группа (n = 25)		43,4±2,0 (38–49)	45,0±1,65 (41–48)

Примечание: * – статистическая достоверность различий по сравнению с контрольной группой; ** – с показателями до и через 3 мес. и 6 мес. лечения (p<0,05-0,01)

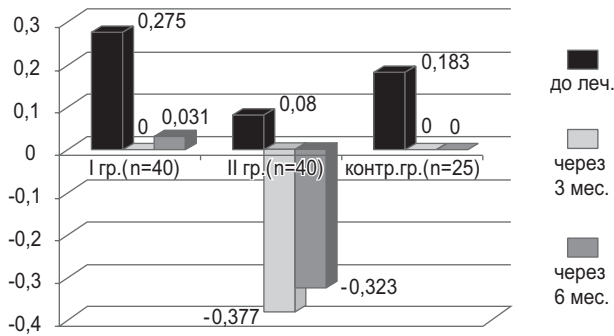


Рис. 2. Коэффициент корреляции между sIgA и ИЛ-1β.

цитокина спустя 3 и 6 мес. была выше контрольного показателя в 1,7 ($p < 0,05$) и в 1,8 раза ($p < 0,05$). Содержание ФНО-α в крови через 3 мес. терапии снизилось по сравнению с исходным в 1,6 раза ($p < 0,05$), а через 6 мес. – в 1,4 раза ($p < 0,05$). У лиц этой группы через 3 и 6 мес. сочетанной терапии уровень ФНО-α превышал контрольный в 1,6 ($p < 0,05$) и 1,8 раза соответственно.

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлено, что после системной антибиотикотерапии в комплексе с местным традиционным лечением (I группа) и системной антибиотикотерапии с использованием местно пробиотикофага (II группа) у пациентов снижаются исходно высокие уровни цитокинов воспаления – ИЛ-1β и ФНО-α, причем наиболее выражено спустя 3 мес. после лечения. При этом у пациентов с сочетанным лечением системными антибиотиками и местным применением пробиотикофага снижение уровня ИЛ-1β через 3 и 6 мес. по сравнению с исходным было достоверно значимым (в 1,5 и 1,4 раза, $p < 0,05$ соответственно), тогда как снижение концентрации этого цитокина у лиц, получавших традиционное лечение, после в эти сроки наблюдения не достигло уровня статистической значимости.

Динамика ФНО-α в группах обследования была несколько иной. У пациентов с местным применением пробиотикофага снижение уровня этого цитокина через 3 и 6 мес. по сравнению с исходным было достоверно значимым – в 1,6 и 1,4 раза ($p < 0,05$) соответственно. У пациентов группы с традиционной терапией статистически существенное снижение отмечалось через 3 мес. после лечения (1,4 раза, $p < 0,05$).

Сравнение величин концентрации ИЛ-1β и ФНО-α после лечения в группе сравнения (I группа) и основной группе (II группа) показало наличие статистически достоверных различий уровня этих провоспалительных цитокинов. Так в основной группе по сравнению с группой сравнения спустя 3 и 6 мес. терапии снижение ИЛ-1β в среднем составило 20,2 и 24,8 % ($p < 0,05$) соответственно, а ФНО-α – 19,8 и 24,8 % ($p < 0,05$). Как видно, проведенная системно антибиотикотерапия с включением в схему лечения препарата «Пробиотикофаг комплексный», способствовала длительному эффекту, что подтверждают отдаленные результаты, т. е. показатели концентрации ИЛ-1β и ФНО-α, полученные спустя 6 мес.

Проведено исследование взаимосвязи уровня sIgA в ротовой жидкости и содержания в сыворотке крови больных обследованных групп ИЛ-1β и ФНО-α (рис. 2 и 3).

Корреляционная зависимость концентрации sIgA в ротовой жидкости и уровня ИЛ-1β в сыворотке крови имела слабый характер (рис. 2). На фоне лечения отмечались разнонаправленные изменения выявленной связи в ранние и отдаленные сроки лечения. Анализируя корреляционные взаимосвязи между уровнем sIgA в ротовой жидкости и содержанием ИЛ-1β в крови спустя 3 мес.

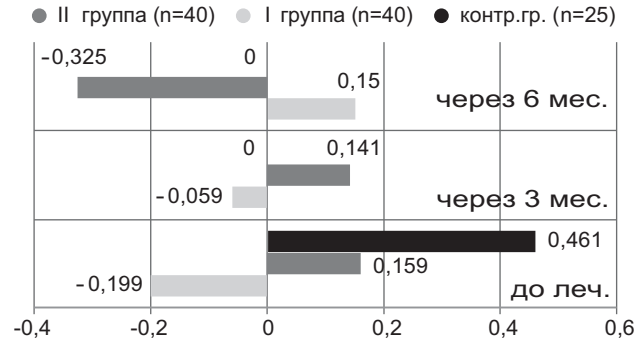


Рис. 3. Коэффициент корреляции между sIgA и ФНО-α.

после лечения наблюдали отсутствие такой связи у пациентов I группы и, напротив, среднюю обратную коррелятивную зависимость у лиц II группы ($r = -0,377$). Через 6 мес. у пациентов I группы, получавших традиционную антибиотикотерапию, между показателями отмечалась очень слабая положительная корреляция ($r = +0,031$), у пациентов II группы, получавших комплексную терапию, отрицательная средняя связь, возникшая ранее, незначительно слабла ($r = -0,323$).

Показатель корреляции взаимосвязи концентрации sIgA в ротовой жидкости и уровня ФНО-α в крови у лиц с хронической стоматогенной инфекцией в сравнении с контрольным показателем был достоверно слабым ($p < 0,01$), причем у пациентов I группы от имел отрицательную направленность, а II группы – положительную. Через 3 мес. после лечения коррелятивная связь ослабла, особенно у лиц группы сравнения. Через 6 мес. отмечались достоверное усиление ($p < 0,01$) и изменение направленности взаимосвязи. У лиц основной группы корреляционная связь между sIgA и ФНО-α стала средней и обратной ($r = -0,325$ против $r = +0,150$ в группе сравнения).

Таким образом, полученные результаты указывают на стимулирующее синтез sIgA действие обоих видов лечения, которое активизировало адаптационные защитные свойства организма. Выявлено, что после местной антибиотикотерапии в комплексе с местным традиционным лечением (I группа) и системной антибиотикотерапии с использованием местно пробиотикофага (II группа) у пациентов снижаются исходно высокие уровни цитокинов воспаления – ИЛ-1β и ФНО-α, причем наиболее выражено спустя 3 мес. после лечения. При этом у пациентов, получавших сочетанное лечение системными антибиотиками и местное применение пробиотикофага снижение уровня ИЛ-1β через 3 и 6 мес. по сравнению с исходным было достоверно значимым (в 1,5 и 1,4 раза, $p < 0,05$ соответственно), тогда как снижение концентрации этого цитокина у лиц, получавших традиционное лечение, после в эти сроки наблюдения не достигло уровня статистической значимости. У пациентов с местным применением пробиотикофага снижение уровня ФНО-α через 3 и 6 мес. по сравнению с исходным было достоверно значимым – в 1,6 и 1,4 раза ($p < 0,05$) соответственно. У пациентов группы с традиционной терапией статистически существенное снижение отмечалось через 3 мес. после лечения (1,4 раза, $p < 0,05$).

Сравнение величин концентрации ИЛ-1β и ФНО-α после лечения между группой сравнения (I группа) и основной группой (II группа) показало наличие статистически достоверных различий уровня этих провоспалительных цитокинов. Так, в основной группе по сравнению с группой сравнения спустя 3 и 6 мес. терапии снижение ИЛ-1β в среднем составило 20,2 и 24,8 % ($p < 0,05$) соответственно, а ФНО-α – 19,8 и 24,8 % ($p < 0,05$). Как видно, системно проведенная антибиотикотерапия с

включением в схему препарата «пиобактериофаг комплексный жидкий», способствовала длительному эффекту, что подтверждают отдаленные результаты, т. е. показатели концентрации ИЛ-1 β и ФНО- α , полученные спустя 6 мес. На более эффективное действие комплексной терапии указывала и коррелятивная связь, изучение которой показало, что повышение содержания sIgA коррелирует со снижением провоспалительных цитокинов.

Следует отметить, что полученные результаты согласуются с данными литературы [3, 5].

Таким образом, проведенные исследования показали, что включение пиобактериофага в комплексную терапию пациентов с хронической стоматогенной инфекцией способствует динамичному снижению провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α , достигая пика через 3 мес. после терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байтус Н.А. Современный взгляд на выбор материалов при лечении хронических воспалительно-деструктивных процессов тканей апикального периодонта // Вестник Витебского государственного медицинского университета, 2012, № 2, с. 171–178.
2. Кузнецова О.А., Губанова Е.И., Шемонаев В.И. Цитокины как показатель местного иммунного статуса пациентов с хроническим пародонтитом // Лекарственный вестник, 2013, том 7, № 2 (50), с. 20–26.
3. Настуева А.М., Хараева З.Ф., Мустафаев М.Ш. Цитокиновый профиль крови больных с одонтогенными гнойно-воспалительными заболеваниями различной степени тяжести // Фундаментальные исследования, 2015, № 1–7, с. 1388–1391.
4. Петрикас А.Ж., Захарова Е.Л., Ольховская Е.Б., Честных Е.В. Распространенность осложненной кариеса зубов // Стоматология, 2014, № 1, с. 19–20.
5. Самигуллина Л.И., Таминдарова Р.Р. Провоспалительные цитокины ФНО- α и ИЛ-1 β в регуляции метаболизма костной ткани и их роль в патогенезе хронического пародонтита // Современные проблемы науки и образования, 2014, № 3, URL: www.science-education.ru/117-13354
6. Chen M.Y., Chen K.L., Chen C.A. et al. Responses of immature permanent teeth

with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures // Int. Endod. J., 2012, vol. 45, No 3, p. 294–305.

7. Deo V., Bhongade M. Pathogenesis of periodontitis: role of cytokines in host response // Dent. Today, 2010, vol. 29, № 9, p. 60–62.

8. Furusawa M., Hayakawa H., Ida A., Ichinohe T. A case of apical fenestration misdiagnosed as persistent apical periodontitis // Bull. Tokyo Dent. Coll., 2012, vol. 53, No1, p. 23–26.

9. Richards D. Oral diseases affect some 3.9 billion people // Evid. Based Dent., 2013, vol. 14, No 2, p. 35.

10. Veloo A.C.M., Seme K., Raangs E. et al. Antibiotic susceptibility profiles of oral pathogens // Int. Journ. Antimicrobial Agents, 2012, vol. 40, Issue 5, p. 450–454.

11. Yang Y., Peng C.F., Qin M. Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study // Chung-Hua Kou Chiang i Hsueh Tsa Chih., 2013, vol. 48, No 2, p. 81–85.

12. Yu V.S., Khin L.W., Hsu C.S. et al. Risk score algorithm for treatment of persistent apical periodontitis // J. Dent. Res., 2014, vol. 93, No 11, p. 1076–1082.

Зміна місцевого імунітету і рівня прозапальних цитокинів у пацієнтів з хронічною стоматогенною інфекцією на тлі поєднаного впливу традиційної терапії та Піобактеріофагу

А.Ч. Пашаєв, К.Ч. Карагезова

Мета: оцінка впливу комплексної медикаментозної терапії хронічної стоматогенної інфекції з використанням препарату «Піобактеріофаг місцевої дії» на зміну рівня секреторного імуноглобуліну А (sIgA) в ротовій рідині і прозапальних цитокинів (ІЛ-1 β і ФНП- α) в крові.

Методи дослідження. В обстеженні взяли участь 80 пацієнтів з хронічною стоматогенною інфекцією в віці від 16 до 69-ти років, середній вік 38,5 \pm 12,58 року.

Результати. В результаті проведеного дослідження виявлено, що після системної антибіотикотерапії в комплексі з місцевим традиційним лікуванням (I група) і системної антибіотикотерапії з використанням місцево піобактеріофага (II група) у пацієнтів знижуються початково-високі рівні цитокинів запалення – ІЛ-1 β і ФНП- α , при чому найбільш виразно через 3 міс. після лікування.

Висновок. Проведені дослідження показали, що включення Піобактеріофагу в комплексну терапію пацієнтів з хронічною стоматогенною інфекцією сприяє динамічному зниженню прозапальних цитокинів ІЛ-1 β і ФНП- α , досягаючи піку через 3 міс. терапії.

Ключові слова: хронічна стоматогенна інфекція, місцевий імунітет, прозапальні цитокини, терапія, піобактеріофаг.

The change in local immunity and the level of proinflammatory cytokines in patients with chronic dental infection against the background of the combined effect of traditional therapy and pyobacteriophage

A. Pashayev, K. Karagezova

The aim of the study was to assess the effect of the complex drug therapy of chronic dentogenic infection using the local piobacteriophage preparation on the change in the level of secretory immunoglobulin A (sIgA) in the oral fluid and proinflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α) in the blood.

We examined 80 patients with chronic dental infection, the average age was 38.5 \pm 12.58 years. sIgA in the oral fluid and IL-1 β and TNF- α in the blood were determined by ELISA. 40 patients (comparison group) received topical antibiotic therapy with a local traditional method of treatment; 40 patients (the main group) received systemic antibiotic therapy, local – phagotherapy (piobacteriophage complex).

Initially, the content of sIgA in patients with chronic dental infection was reduced. After 3 and 6 months after treatment, the sIgA level increased 1.4 times ($p < 0.05$) and 1.3 times ($p < 0.05$), respectively, in Group I and II patients, respectively. Comparison of the concentrations of IL-1 β and TNF- α after treatment between the comparison group and the main group showed that in the main group 3 and 6 months later, The decrease in IL-1 β on average was 20.2% and 24.8% ($p < 0.05$), respectively, TNF- α – 19.8 and 24.8 % ($p < 0.05$).

Key words: chronic dental infection, local immunity, proinflammatory cytokines, therapy, pyobacteriophage.

Пашаєв Ага Чингиз – д-р мед. наук, професор,

зав. кафедрой терапевтической стоматологии Азербайджанского медицинского университета, Баку.

Карагезова Кенуль Чингиз – старший лаборант кафедры терапевтической стоматологии

Азербайджанского медицинского университета, Баку.