

УДК 616.31:616.31-085

ВЛИЯНИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАРОДОНТИТЕ

© Журбенко В.А., Юдина С.М.¹

Кафедра терапевтической стоматологии,¹ кафедра клинической иммунологии и аллергологии
Курского государственного медицинского университета, Курск

E-mail: prepvermed@mail.ru

Изучены особенности мукозального иммунитета ротовой полости у больных хроническим пародонтитом, характеризующиеся повышением уровня противомикробных пептидов – α -дефензинов (HNP1-3) и кателицидина (LL-37), дисбалансом провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-8) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1R α , ИЛ-4), активацией кислородзависимого метаболизма нейтрофилов. Применение в комплексном лечении озонотерапии способствовало более быстрой регрессии воспалительного процесса в тканях пародонта, о чем свидетельствовала положительная динамика субъективного статуса и индексная оценка тканей пародонта пациентов. На фоне озонотерапии происходит стойкая нормализация исходно нарушенных показателей мукозального иммунитета.

Ключевые слова: хронический пародонтит, озонотерапия, противомикробные пептиды, цитокины.

THE OZONE EFFECT ON THE IMMUNITY STATE OF ORAL CAVITY IN CHRONIC PERIODONTITIS

Zhurbenko V.A., Yudina S.M.¹

Department of Therapeutic Stomatology,¹ Department of Clinical Immunology and Allergology
of Kursk State Medical University, Kursk

The peculiarities of the local immunity of the oral cavity in patients with chronic periodontitis, characterized by the increase in the level of antimicrobial peptides - alpha-defensins (HNP1-3) and cathelicidin (LL-37), imbalance of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-8) and anti-inflammatory cytokines (IL-1R α , IL-4), activation of neutrophil oxygen dependent metabolism were examined. The application of ozone therapy contributed to a more rapid regression of the inflammatory process in periodontal tissues proved by the positive dynamics of subjective status and index assessment of patients' periodontal tissues. Against the background of ozone therapy the persistent normalization of initially disturbed indicators of local immunity occurs.

Keywords: chronic periodontitis, ozone therapy, antimicrobial peptides, cytokines.

Патология пародонта представляет одну из наиболее важных проблем стоматологии, что обусловлено распространенностью и прогрессирующим ростом, влиянием на качество жизни больных. Частота заболеваний пародонта колеблется в зависимости от региональных особенностей и социального статуса населения от 50 до 95% [5, 7].

В настоящее время определены этиологические факторы и патогенетические механизмы, лежащие в основе воспалительных заболеваний пародонта и, в частности, хронического пародонтита. По данным большинства исследователей к этим факторам относятся микробный, оксидантный, микроциркуляторный, иммунный, генетический [5, 7]. Исследованиями последних лет получен значительный объем экспериментальных и клинических данных, позволяющих по-новому взглянуть на роль факторов врожденного и адаптивного иммунитета в патогенезе хронического пародонтита.

Как известно, в обеспечении мукозального иммунитета ротовой полости важное значение имеет слюна, содержащая большое количество веществ, обладающих антимикробным действи-

ем: лизоцим, лактоферрин, иммуноглобулины, противомикробные пептиды и др. Содержащиеся в слюне агглютинины и sIgA препятствуют адгезии микроорганизмов, лизоцим разрушает стенки бактерий, а лактоферрин лишает бактерии железа, необходимого для их жизнедеятельности. Кроме того, в поддержании целостности тканей пародонта принимает участие десневая жидкость, в которой содержатся компоненты комплемента, цитокины, иммуноглобулины, лейкоциты [1, 6, 14, 15].

Особая роль в мукозальном иммунитете отводится противомикробным пептидам (ПМП) – катионным белкам, которые обладая широким спектром противомикробной активности, выполняют ряд важных функций как медиаторы воспаления, оказывают иммуномодулирующее и цитотоксическое действие, влияют на хемотаксис лейкоцитов и играют важную роль в развитии аутоиммунных процессов [4, 10, 11, 16].

С нарушением образования противомикробных пептидов, повышением или снижением их экспрессии связывают развитие, течение и исход воспалительных процессов [13, 16, 18]. Однако роль их в развитии воспалительных заболеваний

пародонта находится на начальных этапах изучения.

Это обосновывает актуальность дальнейших исследований иммунных механизмов в развитии хронического пародонтита и разработки информативных критериев диагностики и течения заболевания, а также патогенетически обоснованных методов лечения.

Следует отметить, что, несмотря на существующие многочисленные методы лечения, проблема воспалительных заболеваний пародонта еще далека от разрешения. Побочные эффекты и аллергические реакции на препараты, используемые для местного лечения, приобретение устойчивости к ним микрофлорой пародонтальных карманов свидетельствуют о важности поиска новых методов терапии [8, 9].

Одним из таких направлений является озонотерапия, находящая в последние годы все более широкое применение в клинической практике. Озон обладает большим разнообразием лечебных эффектов: антибактериальным, противовирусным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием. Установлено влияние озона на микрогемодинамику, коррекцию нарушений перекисного окисления липидов и активность системы антиоксидантной защиты [2].

В последнее время озонотерапия стала применяться и в стоматологической практике, в частности при лечении воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта, травматических повреждений челюстно-лицевой области, а также воспалительных заболеваний пародонта [12].

С учетом этого целью работы явилась оценка влияния озонотерапии на состояние мукозального иммунитета полости рта у больных с хроническим пародонтитом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 92 пациента с хроническим пародонтитом в возрасте от 30 до 45 лет (40 мужчин, 52 женщины). Продолжительность заболевания варьировала от 2 до 5 лет.

Диагноз хронического пародонтита с учетом степени тяжести устанавливали в соответствии с международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10, код К 05.3) на основании клинических критериев заболевания: наличие кровоточивости, болезненности десен, неприятного запаха из полости рта, пародонтального кармана, гиперемии, цианотичности, отека десны.

Критериями включения пациентов в исследование были: верифицированный диагноз хронического

пародонтита легкой степени тяжести в стадии обострения, сопутствующая патология в стадии ремиссии. Критериями исключения являлись больные с хроническим пародонтитом в стадии ремиссии, обострение сопутствующей патологии, ОРВИ, заболевания в стадии декомпенсации.

Клиническое обследование больных включало: выявление жалоб пациентов, анамнеза жизни, оценку состояния тканей пародонта, гигиенического состояния полости рта по индексу Федорова Ю.А. – Володкиной В.В. (1971), индекса кровоточивости по Muchlemann (1971), наличие хронического воспаления в десне (проба Шиллера – Писарева, папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс – РМА).

С учетом проводимого лечения пациенты были распределены на 2 группы: 1-ю (контрольную) группу составили 60 больных, получавших традиционное лечение и 2-ю (основную) группу – 32 пациента, которым наряду с традиционным лечением применяли аппликации озонированного масла «Озонид» в пародонтальные карманы ежедневно в течение 10 дней.

Масло «Озонид» представляет масляный раствор продуктов глубокого окисления ненасыщенных карбоновых кислот природного происхождения, обладает противовоспалительным, антиаллергическим, бактерицидным, противовирусным и фунгицидным свойствами.

Для проведения иммунологических исследований нестимулированную смешанную слюну получали путем сплевывания в пробирку в течение 5 минут. После центрифугирования полученный супернатант хранили при температуре – 35°С до проведения исследования.

Количественную оценку уровней ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-8, ИФН- γ , ИЛ-1 α , ИЛ-4 в ротовой жидкости проводили с помощью набора реагентов ЗАО «Вектор - Бест» (г. Новосибирск) и ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Определение содержания дефензинов (HNP1-3) и кателицидинов (LL-37) проводилось методом ИФА с использованием тест-системы «Nucult Biotech» (Нидерланды).

Оценку функциональной активности нейтрофилов ротовой жидкости проводили с помощью спонтанной и стимулированной хемилюминесценции на аппарате «Биохемилуминометр БХЛ-06» путем подсчета светосуммы импульсов за одну минуту.

Контрольную группу составили 20 здоровых лиц без признаков воспалительных заболеваний пародонта.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием параметриче-

ских (t-критерий Стьюдента) и непараметрических (Манна-Уитни) методов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При обращении пациенты предъявляли жалобы на наличие кровоточивости десен при чистке зубов и откусывании твердой пищи в течение нескольких лет, неприятный запах из полости рта, болезненность десен.

Важно отметить, что сопутствующая патология была выявлена у 91,1% больных, среди них преобладали пациенты с заболеваниями желудочно-кишечного тракта.

При объективном исследовании десневые сосочки и маргинальная десна были отечны, цианотичны, при зондировании отмечалась кровоточивость. Глубина пародонтальных карманов достигала 3-3,5 мм. Кроме того у всех больных была выявлена плохая гигиена полости рта, о чем свидетельствовало высокое значение гигиенического индекса. У всех пациентов отмечалась выраженность воспалительного процесса в пародонте, о чем свидетельствовали показания папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса – РМА.

При оценке клинической эффективности озонотерапии в комплексном лечении больных пародонтитом была установлена более быстрая регрессия симптомов заболевания, о чем свидетельствовала динамика субъективного и объективного статуса пациентов по значениям соответствующих индексов (табл.1).

Так, после лечения у больных, получавших аппликации озонированного масла «Озонид» в пародонтальные карманы папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс – РМА и индекс кровоточивости снизился в 2 раза по сравнению с больными контрольной группы. Критерием

эффективности лечения была также проба Шиллера – Писарева, позволяющая оценить выраженность воспаления в десне. До лечения эта проба была положительной у большинства пациентов. После лечения у больных основной группы проба Шиллера – Писарева стала отрицательной в 97% случаев и лишь у 3% больных осталась слабоположительной, в сравнении с пациентами контрольной группы (91% и 9% соответственно).

Согласно современной концепции патогенеза воспалительных заболеваний пародонта иммунная система и в первую очередь факторы врожденного иммунитета определяют противомикробную резистентность и течение репаративных процессов. Одним из важных компонентов врожденной системы иммунитета являются противомикробные пептиды – катионные белки – дефензины и кателицидины, имеющие широкий спектр противомикробной активности, включая Гр- и Гр+ бактерии, грибы, некоторые вирусы. Наряду с антибактериальной активностью противомикробные пептиды играют важную роль в воспалении, влияют на экспрессию ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ-10, являются хемотаксическим фактором для нейтрофилов, моноцитов, тучных клеток [13,16,17]. Уровень ПМП в настоящее время рассматривается как маркер активации воспалительного процесса различного генеза [18].

С учетом этого на втором этапе работы мы исследовали содержание в ротовой жидкости больных хроническим пародонтитом α -дефензинов (HNP1-3) и кателицидина (LL-37).

Как показали полученные результаты, концентрация ПМП превышала показатели здоровых лиц. Так, исходный уровень α -дефензинов (HNP1-3) составил у большинства больных $1116 \pm 33,65$ нг/мл, что превышало в 1,3 раза показатели здоровых лиц. Уровень кателицидина (LL-37) до лечения был в 2,7 раза больше нор-

Таблица 1
Динамика пародонтологических индексов у больных хроническим пародонтитом на фоне лечения

Индексы (баллы)	До лечения		После лечения	
	Контрольная группа (n=60)	Основная группа (n=32)	Контрольная группа (n=60)	Основная группа (n=32)
Гигиенический индекс по Ю.А. Федорова – В.В. Володкиной	2,6 \pm 0,07	2,6 \pm 0,07	1,65 \pm 0,15	1,37 \pm 0,05
Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА)	22,3 \pm 1,18	21,7,0 \pm 1,16	19,2 \pm 1,85	15,7 \pm 0,49
Индекс кровоточивости по Muchlemann	2,23 \pm 0,11	2,25 \pm 0,12	1,46 \pm 0,2	0,73 \pm 0,15

Показатели мукозального иммунитета ротовой полости больных хроническим пародонтитом на фоне лечения

Показатели	Единицы измерения	До лечения (n=40)	После лечения	
			Контрольная группа (n=20)	Основная группа (n=20)
HNP 1-3	нг/мл	1116,98±33,65	921,14±40,53	817,85±29,59*
LL-37	мкг/мл	62,34±1,85	35,56±2,46	23,82±1,09*
ФНО α	пг/мл	4,79±0,21	3,92±0,16	2,17±0,07*
ИЛ -1 β	пг/мл	6,0±0,24	3,92±0,24	2,43±0,12*
ИЛ -8	пг/мл	4,27±0,18	3,89±0,21	2,49±0,09*
ИЛ -4	пг/мл	0,46±0,06	0,56±0,08	1,16±0,10*
ИЛ -1R α	пг/мл	0,42±1,0	0,51±0,14	0,92±0,14*

Примечание: * – различия между группами достоверны ($p < 0,01$).

мальных значений ($61,33 \pm 1,71$ мкг/мл и $22,86 \pm 0,66$ мкг/мл соответственно). Это сочеталось с повышенным содержанием провоспалительных цитокинов ФНО α , ИЛ-1 β и ИЛ-8 в среднем в 2 раза и снижением иммуносупрессорных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-1R α – в 2,7 раза и 3,4 раза соответственно.

Как известно, увеличение содержания α -дефензинов (HNP) способствует усиленной секреции ИЛ-8 и рекрутированию в очаг воспаления нейтрофилов, высвобождающих продукты окислительного взрыва, оказывающих повреждающее действие на слизистую оболочку ротовой полости, подавлению процессов репарации и прогрессированию воспаления [3, 11].

В связи с чем мы провели исследование функциональной активности нейтрофилов ротовой жидкости методом хемилюминесценции, показавшее увеличение как спонтанной, так и стимулированной хемилюминесценции у больных хроническим пародонтитом в 2,2 и в 2,7 раза соответственно по сравнению с показателями здоровых лиц. Полученные данные свидетельствуют об активации цитотоксической активности нейтрофилов больных.

Отметив выраженный клинический эффект озонотерапии в комплексном лечении хронического пародонтита, мы провели оценку ее влияния на динамику восстановления исходно нарушенных показателей мукозального иммунитета.

Как следует из данных, представленных в таблице 2, у больных основной группы, получавших дополнительно местные аппликации «Озонида», наблюдалась более выраженная динамика исследуемых показателей. Так, у 90% пациентов основной группы отмечалась нормализация уровня α -дефензинов и кателицидина, тогда как у пациентов контрольной группы положительная динамика выявлена только у 60% больных.

Аналогичная картина отмечалась и в динамике показателей цитокинового статуса, а именно, если у 86,9% пациентов основной группы, получавших «Озонид», концентрация исследуемых цитокинов достигла нормальных значений, то в контрольной группе такая положительная динамика констатирована только у 64,3% пациентов.

Применение в комплексном лечении «Озонида» способствовало нормализации показателей спонтанной, и стимулированной хемилюминесценции у 80,2% больных и у 60,5% – контрольной группы.

Таким образом, применение в комплексном лечении хронического пародонтита озонотерапии способствует более быстрому купированию воспалительного процесса в пародонте, о чем свидетельствует более быстрая регрессия клинических симптомов заболевания, динамика восстановления исходно нарушенных показателей мукозального иммунитета ротовой полости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилова Т.П., Штрунова Л.Н., Шишкин С.В., Шишкин В.С. Использование показателей смешанной слюны в оценке состояния тканей пародонта // Российский стоматологический журнал. – 2010. – № 1. – С. 10-13.
2. Безрукова И.В., Грудянов А.И. Использование медицинского озона в стоматологии // Стоматология. – 2001. – № 2. – С. 61-63.
3. Будихина А.С., Пинегин Б.В. Дефензины-антимикробные пептиды нейтрофилов: свойства и функции // Иммунология. – 2008. – № 5. – С. 317-320.
4. Будихина А.С., Пинегин Б.В. Дефензины-мультифункциональные катионные пептиды человека // Иммунопатология. Аллергология. Инфектиология. – 2008. – № 2. – С. 31-40.
5. Григорьян А.С., Грудянов А.И., Рабухина Н.А., Фролова О.А. Болезни пародонта. – М.: МИА, 2004. – 320 с.

6. Грамматикова Н.Э., Резван С.П., Немцова Е.Р., Безбородова О.А., Тутыхина И.Л., Народицкий Б.С., Якубовская Р.И. Изучение антибактериальных свойств лактоферрина из различных источников в системе *in vitro* // Антибиотики и химиотерапия. – 2010. – № 7. – С. 4-9.
7. Грудянов А.И. Обследование лиц с заболеваниями пародонта // Пародонтология. – 1998. – № 3. – С. 8-12.
8. Грудянов А.И., Овчинникова В.В. Профилактика воспалительных заболеваний пародонта. – М., 2007. – 79 с.
9. Дмитриева Л.А., Крайнова А.Г. Современные представления о роли микрофлоры в патогенезе заболеваний пародонта // Пародонтология. – 2004. – № 1. – С. 8-15.
10. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мороз А.Ф., Аведова Т.А., Москвина С.Н. Противомикробные пептиды иммунной системы: клинические аспекты // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 2. – С. 20-26.
11. Кокряков В.Н., Стефанов В.Е., Алешина Г.М., Шамова О.В., Корнева Е.А., Харвиц С.С., Лерер Р.И. Дефензины и родственные им антибиотические пептиды в эволюции защитных систем животных // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 1997. – Т. 33, № 1. – С. 109-123.
12. Коротких Н.Г., Лазутиков О.В., Дмитриев В.В. Влияние озона на микробиологические характеристики ротовой жидкости у больных с переломами нижней челюсти // Стоматология. – 2000. – № 2. – С. 20-21.
13. Кулакова Е.В., Елизарова В.М., Пампура А.Н. Эндогенные антимикробные полипептиды-факторы неспецифической защиты организма // Российский стоматологический журнал. – 2012. – № 6. – С. 42-45.
14. Макеева И.М., Смирнова Т.Н., Черноусов А.Д., Романченко А.И., Годьдман И.Л., Садчикова Е.Р. Применение лактоферрина в комплексном лечении стоматологических заболеваний (обзор литературы) // Стоматология. – 2012. – № 4. – С. 66-71.
15. Рабинович О.Ф., Абрамова Е.С. Бактерицидная активность ротовой жидкости в комплексной диагностике дисбиотических изменений слизистой оболочки рта // Стоматология. – 2012. – № 3. – С. 35-37.
16. Dale B.V., Fredericks L.P. Antimicrobial peptides in oral environment: expression and function in Health and disease // Curr. Issues. Mol. Biol. – 2005. – Vol. 7, N 2. – P. 119-133.
17. Gabay J.E., Almeida R.P. Antibiotic peptides and serine protease homologs in human polymorphonuclear leukocytes: defensins and azurocidin // Curr. Opin. Immunol. – 1993. – Vol. 5. – P. 97-102.
18. Yount N.Y., Yeaman M.R. Immunoconsilium: Perspectives in Antimicrobial. Peptide Mechanisms of Action and Resistance. // Protein and Peptide Letters. – 2005. – Vol. 12 – P. 49-67.