

Ш.Л. Шиманский,  
к.м.н., главный врач

ГБУЗ «Стоматологическая поликлиника  
№ 65», Москва

## Оценка клинической эффективности методики репрограммирования макрофагов в комплексной терапии хронического пародонтита

**Резюме.** В слепом рандомизированном проспективном исследовании на 60 добровольцах, больных хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести, проведена клиническая оценка эффективности предложенной методики репрограммирования макрофагов тканей пародонта путем четырехкратных подслизистых инъекций в области переходной складки аутосыворотки крови на протяжении 2 месяцев. В подгруппах основной группы с и без профессиональной гигиены полости рта выявлено статистически значимое уменьшение количества зубного налета и кровоточивости десен, а также уменьшение числа лейкоцитов и показателя СОЭ в периферической крови в отличие от группы сравнения, где аутосыворотку не использовали. Предполагается, что эта методика может повысить эффективность комплексного лечения хронического пародонтита.

**Ключевые слова:** пародонтит, репрограммирование макрофагов, комплексное лечение

**Summary.** In a blind randomized prospective research 60 moderately severe chronic generalized periodontitis volunteer patients took part in clinical evaluation of the efficiency of the proposed technology of reprogramming of macrophages of the periodontium tissue with four submucosal injections in the area of the transitory fold of blood autoserum during 2 months. In subgroups of the main group with and without professional oral hygiene there was statistically significant decrease of the amount of dental tartar and bleeding gum, as well as decrease of the number of leukocytes and blood sedimentation rate index in peripheral blood, as opposed to the experimental group, where autoserum was not used. It is assumed, that this technology can improve the efficiency of complex chronic periodontitis therapy.

**Key words:** periodontitis, reprogramming of macrophages, complex therapy

Хронический пародонтит — воспалительное заболевание, сопровождающееся серьезными иммунологическими изменениями в тканях пародонта. Поэтому одним из важных компонентов комплексного лечения заболевания является иммунокорректирующая терапия. Первая линия защиты — неспецифический иммунитет непосредственно связан с клеточным компонентом, в частности с активностью макрофагов в зоне воспаления. В последние годы детально изучен механизм дифференцировки и активации макрофагов при распространенной хронической общей патологии: хронической обструктивной болезни легких [1], атеросклерозе сосудов [6]. При этом четко сформировалось представление о дивергентной поляризации макрофагов. Это понятие подразумевает способность макрофагов в зависимости от получаемых извне сигналов проявлять как про-, так и противовоспалительную активность. По этой причине выделяют два полярных типа активированных макрофагов: M1 и M2 [5]. Классический путь активации нативных макрофагов подразумевает формирование

фенотипа M1 в ответ на воздействие ряда провоспалительных факторов. Такая активация приводит к увеличению секреции макрофагами провоспалительных цитокинов, главным образом IL-12. За счет этого M1-макрофаги инициируют воспаление, при котором они проявляют выраженную бактерицидную и цитотоксическую активность, поддерживая Th1-зависимый иммунный ответ [8]. Не так давно открыта альтернативная активация макрофагов в фенотип M2, которая происходит под влиянием IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-13 и иммунных комплексов [7]. Макрофаги фенотипа M2 поддерживают Th2-зависимый иммунный ответ, подавляют воспалительную реакцию и способствуют восстановлению ткани [9].

Проведенные нами ранее экспериментальные (на животных) и иммунологические исследования показали, что с помощью искусственного изменения состава тканевой жидкости возможно репрограммирование макрофагов фенотипа M1 в фенотип M2. В частности, для этого достаточно увеличить в очаге воспаления

содержание сыворотки крови, богатой иммуноглобулинами, иммунными комплексами и другими факторами активации макрофагов [4]. Отмечено, что подслизистое введение ауто-сыворотки в области переходной складки способствует изменению иммунологической реакции в тканях пародонта с увеличением пропорции M2-фенотипа макрофагов. Исходя из этих данных, мы попытались клинически оценить эффективность такой методики при лечении хронического пародонтита в специально спланированном исследовании.

Цель исследования: провести сравнительную оценку клинической эффективности метода репрограммирования макрофагов тканей пародонта при комплексном лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести (ХГП).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В клиническом рандомизированном слепом проспективном исследовании участвовали 60 добровольцев больных ХГП в возрасте от 26 до 68 лет (24 мужчины и 36 женщин). Диагноз подтверждался клинически и рентгенологически. Критериями исключения являлись: отказ больного от участия в исследовании; обострение воспалительного процесса в тканях пародонта; общие хронические заболевания, такие как диабет, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, выраженный атеросклероз сосудов, хронические заболевания почек, печени и желудочно-кишечного тракта; онкологические, а также острые инфекционные заболевания. Все пациенты явились на прием к пародонтологу либо впервые, либо они не обращались за пародонтологической помощью в последние 2 года.

Участники исследования произвольно были отнесены к одной из 4 подгрупп, но так, чтобы в каждой подгруппе сохранялся одинаковый половой состав: по 6 мужчин и 9 женщин. Подгруппы А1 и А2 составили опытную группу А, в которой использовали методику репрограммирования макрофагов, подгруппы Б1 и Б2 — группу сравнения Б, в которой эта методика не применялась. В подгруппах А1 и Б1 после планирования комплексного пародонтологического исследования, но не позднее чем за неделю до начала наблюдений, проводили профессиональную гигиену полости рта, а в подгруппах А2 и Б2 этого не делали. Каждый пациент получал цифровой код, который исключал информирование врача, проводящего клиническое обследование, о том, к какой группе он относится. У больных получали письменное информированное согласие, также включавшее согласие на отсрочку в проведении основных лечебных процедур (консервативных, хирургических и ортопедических) на весь период исследования, который длился 2,5 месяца.

Репрограммирование макрофагов тканей пародонта проводили следующим образом. У пациента забирали 10 мл венозной крови, которую помещали в вакуумные стерильные пробирки для центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 минут. Затем шприцем

отсасывали отделившуюся плазму крови и проводили 4 инъекции в области переходной складки в каждом квадранте обеих челюстей на уровне первых моляров. Объем плазмы на одну инъекцию составлял 1,0–1,5 мл. Инъекции проводили с интервалом в 14–15 суток, всего 4 раза за период наблюдения. Обследование в конце периода проводили спустя 14–15 суток после последней серии инъекций.

Комплексное клиническое обследование больных проводили в начале периода исследования и спустя 2,5 месяца. Оно включало пародонтологическое обследование с помощью компьютерной диагностической системы Florida Probe (США), рентгенологическое обследование (КЛКТ или ортопантомография) и клинический анализ крови.

С помощью Florida probe получали развернутую картину клинического состояния тканей пародонта. При этом рассчитывали такие показатели, как общий показатель зубного налета в интегрированном гигиеническом индексе В.А. Румянцева (О-ИГИ) [2], средний показатель глубины пародонтальных карманов (ГК), число зубов с пародонтальными карманами от 3 до 5 мм и более 5 мм, средний показатель величины рецессии десны (РД), число зубов с выявленной рецессией десневого края, индекс кровоточивости десен (ИКД), число зубов, имеющих патологическую подвижность. Показатели рассчитывали по формулам:

$$ГК = \frac{H_{\max}}{n}, \quad РД = \frac{R}{n}, \quad ИКД = \frac{G}{n}, \quad \text{где:}$$

$H_{\max}$  — сумма глубины карманов, измеренных у всех зубов (максимальное значение из 6 точек измерения);  $R$  — сумма значений рецессии десны, измеренных у всех зубов,  $G$  — количество зубов с выявленным симптомом кровоточивости десен,  $n$  — количество всех зубов.

По результатам проведения рентгенологического обследования рассчитывали индекс Фукса, позволяющий судить о степени резорбции кости альвеолы относительно длины корня зуба [3].

Результаты исследования обрабатывали вариационно-статистическим методом с использованием  $t$ -критерия, различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В конце исследования было обнаружено, что подавляющее большинство пациентов основной группы А (24 человека) отмечали уменьшение кровоточивости десен во время чистки зубов, 8 обследованных указали на устранение неприятного запаха изо рта. В группе Б только 6 пациентов (из подгруппы Б1) отметили уменьшение кровоточивости десен и только 3 указали на устранение запаха изо рта. В период наблюдения у одного больного из подгруппы Б2 было выявлено обострение хронического воспалительного процесса в области нижних боковых зубов, сопровождавшееся появлением болезненности при накусывании на зубы и незначительным гноетечением из пародонтальных

карманов глубиной 6–8 мм. Динамика средних значений оцененных объективных клинических показателей в ходе исследования представлена в табл. 1–5.

Статистически значимые изменения общего показателя зубного налета ИГИ в подгруппах, в которых проводили профессиональную гигиену (А1, Б1, см. табл. 1), были ожидаемы. Однако оказалось, что в опытной

**Таблица 1. Изменения общего показателя зубного налета в интегрированном гигиеническом индексе**

Группа	В начале исследования	В конце исследования	$\Delta$	$p$	$t$
А1	2,13±0,05	0,87±0,04	-1,26*	<0,05	19,68
А2	2,08±0,06	1,91±0,06	-0,17	>0,05	2,00
Б1	2,11±0,07	1,33±0,05	-0,78*	<0,05	9,07
Б2	2,15±0,05	2,02±0,06	+0,13	>0,05	1,66

\* Различие между средними показателями достоверно:  $p<0,05$  ( $t=6,15$ ).

**Таблица 2. Изменения индекса кровоточивости десен**

Группа	В начале исследования	В конце исследования	$\Delta$	$p$	$t$
А1	0,32±0,08	0,12±0,01	-0,20*	<0,05	2,48
А2	0,31±0,08	0,13±0,01	-0,18*	<0,05	2,23
Б1	0,30±0,08	0,28±0,06	-0,02	>0,05	0,20
Б2	0,33±0,08	0,34±0,09	+0,01	>0,05	0,08

\* Различие между средними показателями недостоверно:  $p>0,05$  ( $t=0,47$ ).

**Таблица 3. Изменения среднего показателя глубины пародонтальных карманов**

Группа	В начале исследования	В конце исследования	$\Delta$	$p$
А1	3,21±0,19	3,16±0,18	-0,05	>0,05
А2	3,27±0,08	3,26±0,01	-0,01	>0,05
Б1	3,19±0,08	3,17±0,06	-0,02	>0,05
Б2	3,25±0,08	3,26±0,09	+0,01	>0,05

**Таблица 4. Изменения среднего показателя рецессии десны**

Группа	В начале исследования	В конце исследования	$\Delta$	$p$
А1	2,06±0,24	1,94±0,20	-0,10	>0,05
А2	2,09±0,22	1,99±0,18	-0,10	>0,05
Б1	2,10±0,26	2,07±0,18	-0,03	>0,05
Б2	2,05±0,25	2,14±0,19	+0,09	>0,05

**Таблица 5. Изменения среднего показателя рентгенологического индекса Фукса**

Группа	В начале исследования	В конце исследования	$\Delta$	$p$
А1	0,76±0,10	0,71±0,11	-0,05	>0,05
А2	0,79±0,12	0,78±0,11	-0,01	>0,05
Б1	0,75±0,11	0,74±0,12	-0,02	>0,05
Б2	0,82±0,14	0,82±0,15	+0,01	>0,05

подгруппе А1 в конце периода исследования редукция показателя была на 38,1% больше, чем в подгруппе сравнения Б1. И это различие оказалось статистически значимым ( $p<0,05$ ). Можно предположить, что такое различие обусловлено выраженным изменением иммунологической активности тканей пародонта в сторону ее увеличения в подгруппе А1. Но это предположение требует своего дальнейшего подтверждения исследованием иммунологических показателей.

В ходе исследования отмечено статистически достоверное уменьшение индекса кровоточивости десен (ИКД), причем в обеих подгруппах основной группы (см. табл. 2). Если такое изменение у пациентов подгруппы А1 можно было бы объяснить проведенной профессиональной гигиеной, то возникает вопрос: почему достоверно уменьшился показатель у пациентов подгруппы А2, где врачебные гигиенические мероприятия не проводились, и почему таких же изменений не было выявлено в подгруппе Б1, где они проводились? Эти интересные данные свидетельствуют в пользу положительного влияния на степень кровоточивости десен именно инъекций аутосыыворотки в обеих подгруппах основной группы. При этом также можно сделать вывод, что профессиональная гигиена полости рта сравнительно в меньшей степени влияет на симптом кровоточивости десен.

В отличие от описанных выше изменений двух клинических показателей, нам не удалось выявить статистически значимой динамики в таких показателях, как глубина пародонтальных карманов (см. табл. 3), степень рецессии десны (см. табл. 4) и рентгенологического показателя степени деструкции костной ткани (индекса Фукса, см. табл. 5). Однако при этом отмечено незначительное уменьшение у обследованных подгруппы А1 числа пародонтальных карманов глубиной от 3 до 5 мм в среднем с  $12\pm 1,8$  до  $10\pm 1,6$  ( $p>0,05$ ,  $t=0,83$ ), в то время как в других подгруппах никаких изменений этого показателя не наблюдали. Ни в одной из подгрупп не было выявлено уменьшения числа пародонтальных карманов глубиной более 5 мм и уменьшения числа зубов с патологической подвижностью. Эти данные вполне объяснимы, поскольку ни у одного из обследованных пациентов в период исследования не проводилось манипуляций, направленных на ликвидацию пародонтальных карманов. В то же время хоть и незначительное уменьшение числа зубов с пародонтальными карманами глубиной до 5 мм в подгруппе А1 свидетельствует о положительном влиянии на этот показатель инъекций аутосыыворотки крови в сочетании с профессиональной гигиеной рта. Возможно, более длительное исследование позволит выявить и статистически значимые изменения столь важного для пародонтолога показателя. При анализе показателей крови статистически значимые изменения в ходе исследования выявлены только у больных группы А (30 человек). У них отмечено уменьшение числа лейкоцитов: в среднем с  $7,120\pm 0,471\cdot 10^9$  до  $5,430\pm 0,223\cdot 10^9$  ( $p<0,05$ ,  $t=3,24$ ), а также показателя СОЭ в среднем с  $8,420\pm 0,778$  до  $5,870\pm 0,760$  мм/ч ( $p<0,05$ ,  $t=2,34$ ).

## ВЫВОДЫ

Резюмируя полученные в результате проведенного клинического исследования данные, можно заключить, что методика репрограммирования макрофагов путем проведения четырехкратных подслизистых инъекций аутосыворотки крови в течение 2 месяцев способствует статистически достоверному уменьшению количества зубного налета и степени кровоточивости десен у больных ХГП, а также улучшению показателей периферической крови, свидетельствующих об ослаблении общей воспалительной реакции в организме. Эффект усиливается при проведении профессиональной гигиены рта. Можно предположить, что предложенная методика будет способствовать повышению эффективности комплексного пародонтологического лечения, положительно влияя на иммунологическую активность тканей пародонта.



Клинические примеры состояния тканей пародонта у пациентов до (слева) и после лечения (справа)

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Лямина С.В., Круглов С.В., Калиш С.В., Малышев И.Ю. Репрограммирование альвеолярных макрофагов — новая возможность управления иммунным ответом. — *Вестник ВолГМУ*. — 2011; 4 (40): 42—6.
2. Румянцев В.А. Закономерности кислотно-основных процессов в полости рта и межзубных промежутках: автореф. дис. ... д.м.н. — М., 1999. — 44 с.
3. Дмитриева Л.А., Максимовский Ю.М. (ред.) Терапевтическая стоматология. Национальное руководство. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 912 с.
4. Шиманский Ш.Л., Суворова И.А., Чиликин В.Н., Малышев И.Ю., Румянцев В.А. Роль фенотипа и пластичности макрофагов в развитии воспалительной реакции при экспериментальном гингивите у мышей разных генетических линий. — *Dental Forum*. — 2015; 1 (56): 21—4.
5. Шиманский Ш.Л., Чиликин В.Н., Малышев И.Ю., Суворова И.А., Румянцев В.А., Денис А.Г. Фагоцитарная защита пародонта и способы ее активации (обзор литературы). — *Стоматология*. — 2013; 5: 60—5.
6. Шишкина В.С. Роль про- и противовоспалительных макрофагов M1 и M2 в развитии атеросклеротического поражения: автореф. дис. ... к.б.н. — М., 2014. — 23 с.
7. Butcher M.J., Galkina E.V. Phenotypic and functional heterogeneity of macrophages and dendritic cell subsets in the healthy and atherosclerosis-prone aorta. — *Frontiers in Physiology*. — 2012; 3 (44): 1—13.
8. Mantovani A., Garlanda C., Locati M. Macrophage diversity and polarization in atherosclerosis: a question of balance. — *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. — 2009; 29: 1419—23.
9. Wolfs I.M., Donners M.M., de Winther M.P. Differentiation factors and cytokines in the atherosclerotic plaque micro-environment as a trigger for macrophage polarization. — *Thromb Haemost*. — 2011; 106 (5): 763—71.