

На правах рукописи

Чекалина Татьяна Леонидовна

УДК: 616.313 - 002.258 - 085.322

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФИТОМИКС - 40 В
КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ЛЕЙКОПЛАКИЕЙ**

**14.00.21 - Стоматология
14.00.36 - Аллергология и иммунология**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва-2001

Работа выполнена в Московском государственном медико-стоматологическом университете МЗ РФ

Научные руководители:

Заслуженный врач России,
доктор медицинских наук, профессор
доктор биологических наук

М.М.Пожарицкая
О.А.Бочарова

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Ю.М.Максимовский
Н.И.Ильина

Ведущее учреждение: Центральный научно-исследовательский институт стоматологии МЗ РФ

Защита состоится « ____ » _____ 2002 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 084.08.02 в Московском государственном медико-стоматологическом университете МЗ РФ (109021, г.Москва, ул.Долгоруковская, д.4).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке МГМСУ по адресу: 125206, г.Москва, ул Вучетича, д.10а.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2002 г.

**Ученый секретарь
диссертационного
совета, к.м.н.**

Н.В.Шарагин

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. С каждым годом смертность от новообразований увеличивается [Трапезников Н.Н. Аксель Е.М., 2000; Здоровоохранение, 2000]. В связи с этим особую актуальность приобретает раннее выявление, эффективное лечение и динамическое наблюдение за пациентами, страдающими предраковыми заболеваниями [Сидорова Т.И. 1997; Воробьев Ю.И., Гарбузов М.И., 2000].

Лейкоплакия слизистой оболочки полости рта (СОПР) на современном этапе развития медицины в целом и стоматологии в частности расценивается как типичное предраковое заболевание. Лейкоплакия встречается и в других органах (слизистая оболочка полости носа, гортани, пищевода, наружных половых органов, шейки матки и т.д.). При неблагоприятных условиях возможна трансформация этого заболевания в плоскоклеточную карциному слизистой оболочки полости рта [Шаргородский А.Г., 1999; Пачес А.И., 2000; Данилевский Н.Ф., Урбанович Л.И., 1979; Карл В., Кумао С., 1993 г; Lumerman H, Freedman P., 1995; Kannan R, Vijur GN, Mallery SR, 1996; Zakrzewka JM, Lopes V, Speight P. 1996].

В литературе встречаются отдельные работы зарубежных авторов, посвященные иммунологическим исследованиям при лейкоплакии [Pillai M.R., Balarm P., Kannan S. 1990]. Вместе с тем выдвигается гипотеза о том, что основным механизмом опухолевого процесса является нарушение межклеточной адгезии, в норме обеспечивающей гомеостаз дифференцированной ткани [Бочарова О.А., 2001]. Публикуемые материалы этого направления исследований, касающиеся предраковых заболеваний, единичны, отрывочны и малоинформативны.

Лейкоплакия весьма трудно поддается консервативному лечению. В настоящее время для этого широко используются препараты витамина «А», известные своими иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами. Однако на практике этот метод не всегда обладает высокой эффективностью. В связи с этим поиск новых подходов к консервативному, медикаментозному лечению лейкоплакии является оправданным и актуальным.

Внимание исследователей издавна привлекала группа растительных адаптогенов, или модификаторов биологического ответа (женьшень, элеутерококк, родиола розовая, лимонник и др.),

обладающих своеобразным сочетанием свойств протекторов и регуляторов дифференцировки и гомеостаза. Накоплен богатый экспериментальный и клинический материал, свидетельствующий о лечебно-профилактических свойствах отдельных адаптогенов в отношении онкологических заболеваний [Яременко К.В., 1990; Купин В.И., Летягин В.П., Сюткина Н.И., 1992; Бочарова О.А., Матвеев Б.П., Барышников А.Ю., 1995; Yi R.L., Li W., Hao X.Z., 1993; Yun T.K., Choi S.Y., Lee Y.S., 1993]. К сожалению, эти работы формально остаются теоретическими, ибо результаты этих исследований в практической медицине широко не используются. Это связано с тем, что применение отдельных адаптогенов должно сопровождаться сложным иммунологическим контролем с определением у больного индивидуальной толерантности и привыкания. В связи с этим, а также с точки зрения перспективности сочетанных воздействий, влияющих на разные звенья защитных систем организма, несомненный интерес представляют многокомпонентные фитомикстуры [Яременко К. В., 1990; Zee-Cheng R.K., 1992].

В Российском онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина РАМН проводится работа по созданию отечественного комплексного адаптогенного препарата Фитомикс-40 для профилактической онкологии. Фитомикс-40 представляет собой натуральный экстракт на основе сорока целебных растений, включая женьшень, золотой корень, элеутерококк, лимонник, чагу, чистотел, можжевельник, пижму, зверобой, сосновые и березовые почки, калган, бессмертник, эвкалипт, одуванчик, душицу, пустырник, валерьяну, ягоды боярышника, шиповника, черники, клюквы, черной смородины и др. Препарат сертифицирован в качестве парафармацевтика. В эксперименте показаны такие его свойства, как отсутствие токсичности [Бочарова О.А., Карпова Р.В. и др., 1999], антиоксидантная [Bocharova O.A., Kucheryanu V.G. et al., 1998], антиметастатическая и иммуномодулирующая [Bocharova O., Serebriakova R. et al., 1997] активности, радиопротекторный эффект [Знаменский В.В., Щеголева Р.А., 2001]. В клинических исследованиях у лиц с доброкачественной гиперплазией предстательной железы получены положительные результаты по профилактике и лечению этого заболевания [Bocharova O., Matveev V. et al. 1998; Bocharova O., Matveev V. et al. 1999; Bocharova O., Matveev V. et al. 2000], а также выявлены наиболее эффективные дозы

применения «Фитомикс-40», показывающие иммуно- и гормономодулирующие свойства препарата.

В связи с вышеизложенным комплексные исследования, раскрывающие некоторые иммунологические аспекты, участие адгезионных взаимодействий в дисдифференцировке эпителиоцитов при лейкоплакии СОПР, возможность коррекции выявленных нарушений и клинических проявлений с помощью Фитомикс-40 представляются актуальными.

Цель исследования - повышение эффективности комплексного лечения больных лейкоплакией слизистой оболочки полости рта на основании изучения роли иммунитета и адгезионных механизмов в дисдифференцировке эпителия патологического очага, а также возможности коррекции выявленных нарушений при использовании «Фитомикс-40».

Задачи исследования

1. Проведение клинического стоматологического обследования больных лейкоплакией слизистой оболочки полости рта.
2. Изучение показателей иммунного, интерферонового статуса, уровня гормона кортизола у больных лейкоплакией СОПР.
3. Определение уровня эпителиоцитов с экспрессией молекул адгезии (CD54, CD29), кератина 17 и антигена CD95 на поверхностных эпителиоцитах в норме и при лейкоплакии слизистой оболочки полости рта.
4. Проведение сравнительного анализа клинических результатов комплексного лечения больных лейкоплакией слизистой оболочки полости рта с применением «Фитомикс-40» и препаратов витамина «А».
5. Сравнительная оценка изменений лабораторных показателей у больных лейкоплакией под влиянием лечения с использованием «Фитомикс-40» и препаратов витамина «А».

Научная новизна исследования. Впервые проведено исследование показателей иммунного, интерферонового статуса, а также уровня стресс-гормона кортизола у больных лейкоплакией слизистой оболочки полости рта.

Впервые на кератиноцитах патологического очага слизистой оболочки полости рта при лейкоплакии изучена экспрессия молекул адгезии CD54 и CD29, кератина 17, CD95 (Fas APO-1) антигена.

Впервые показано значение нормализации изученных параметров для эффективности комплексного лечения больных лейкоплакией слизистой оболочки полости рта.

Впервые раскрыты некоторые иммунологические особенности патогенеза лейкоплакии слизистой оболочки полости рта с учетом роли адгезионных механизмов в дисдифференцировке эпителиоцитов полости рта.

Впервые показано антистрессорное, иммуномодулирующее и интерферогенное действие «Фитомикс-40» при лечении больных лейкоплакией СОПР.

Нормализация показателей иммунного, интерферонового статуса, уровня стресс-гормона кортизола, а также экспрессии дифференцировочных антигенов эпителиоцитов под влиянием «Фитомикс-40» у больных лейкоплакией позволяет отнести его к группе адаптогенных препаратов.

Научно-практическая значимость работы и внедрение результатов в практику. Выявленная взаимосвязь особенностей экспрессии дифференцировочных антигенов эпителиальных клеток слизистой оболочки полости рта с клинико-морфологическими проявлениями лейкоплакии имеет практическое значение в плане диагностики и прогноза заболевания.

Научно-обосновано применение в практической стоматологии метода нетоксической терапии с использованием "Фитомикс-40" для лечения предраковой патологии - лейкоплакии СОПР.

Обнаружение иммуно-, гормонотормодулирующей и интерферогенной активности «Фитомикс-40» обосновывает его использование для коррекции иммунобиологических показателей гомеостаза у больных лейкоплакией.

Показанное отсутствие индивидуальной иммунологической толерантности и привыкания к «Фитомикс-40» после длительного применения устраняет проблему индивидуального подбора препарата. Последнее расширяет перспективы его применения в связи с преимуществом перед другими иммуномодуляторами.

Выявленная клиническая эффективность, а также интерферогенное, иммуномодулирующее, антистрессорное и адгезиогенное свойства «Фитомикс-40» при лечении больных

лейкоплакией СОПР имеют практическое значение для профилактики онкологических заболеваний в стоматологии.

Полученные результаты являются основанием для дальнейших клинических исследований «Фитомикс-40» при использовании его в качестве иммуномодулятора у онкологических больных.

Материалы диссертации внедрены в клиническую работу кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний МГМСУ, включены в учебный процесс при проведении семинарских занятий с ординаторами, интернами, слушателями ФУВ, ФППКП МГМСУ.

Основные положения, выносимые на защиту. Лейкоплакия слизистой оболочки полости рта характеризуется нарушением программы дифференцировки эпителия при отсутствии специфических нарушений со стороны иммунной системы.

Использование «Фитомикс-40» в комплексном лечении больных лейкоплакией СОПР является эффективным.

«Фитомикс-40» является неспецифическим иммуномодулятором.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на: 10-ом Международном фармацевтическом симпозиуме (IPTS-2000), г. Стамбул, 2000; 4-ом Международном симпозиуме «Биологически активные добавки к пище: XXI век», г. Санкт-Петербург, 2000; 8-ой Международной конференции «СПИД, рак и родственные проблемы», г. Санкт-Петербург, 2000; 3-ем Международном биофармацевтическом симпозиуме (APV/APGI), г. Берлин, 2000г.; 11-ом Симпозиуме по новым лекарствам в терапии рака (NCI-EORTC-AACR) г. Амстердам, 2000г.; Российском научном форуме с международным участием «Стоматология на пороге третьего тысячелетия», г. Москва, 2001г.; совместной научной конференции кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний, факультетской терапевтической стоматологии МГМСУ; лаборатории иммунофармакологии, биохимической фармакологии, клинической иммунологии, гемцитологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; отдела интерферонов и цитокинов НИИЭиМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН (21 сентября, 2001г., МГМСУ).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, 6 глав

собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 29 таблицами и 8-ю рисунками. Библиографический указатель включает 250 источников, из которых 137 отечественных и 113 зарубежных.

Содержание работы

Объекты и методы исследования. Комплексное исследование включало общее клиническое, стоматологическое и лабораторное обследование 54 больных лейкоплакией СОПР, а также 20 лиц контрольной группы. Больные направлялись в клинику для обследования и лечения из различных лечебных учреждений г.Москвы или были выявлены при профилактических осмотрах.

Больные лейкоплакией СОПР были распределены по возрасту, полу, формам заболевания. При постановке диагноза использовалась классификация А.Л.Машкилейсона, 1984г. Наибольшее число больных относилось к возрастной группе старше 61 года, самой распространенной формой лейкоплакии СОПР среди обследованных была веррукозная. В возрастной группе от 21 до 40 лет преобладали пациенты с плоской формой заболевания. Выявлено, что среди обследованных больных чаще лейкоплакия СОПР встречалась у лиц мужского пола (34 мужчины из 54 обследованных).

Для решения поставленных задач и в зависимости от метода лечения СОПР больные были разделены на три группы:

1-ая группа (основная): 28 человек - больные лейкоплакией, в комплексном лечении которых применяли препарат "Фитомикс-40".

2-ая группа (сравнения): 26 человек - больные лейкоплакией, при лечении которых применяли препараты витамина "А" (масляный раствор ретинола ацетата и "Аевит").

3-ая группа (контрольная): включала 20 человек (волонтеров) практически здоровых лиц без патологии СОПР (9 мужчин и 11 женщин).

Пациентам основной и контрольной групп назначали прием препарата «Фитомикс-40» per os по следующей схеме: 15 мл препарата (+ 5 мл воды) за 15-20 мин до еды 3 раза в день. Курс приема составлял 1,5 месяца. Всего пациентам проводилось 3-4 курса с 2-х недельным перерывом между ними. При проведении каждого последующего курса ежедневную дозу препарата увеличивали на 5 мл. Для создания условий максимально долгого местного контакта с пораженной

слизистой оболочкой пациентам рекомендовали перед проглатыванием препарата держать его во рту в течение 10-15 минут.

Больным группы сравнения проводили лечение с использованием витаминных препаратов группы "А" местно и внутрь по стандартной схеме [Машкилейсон А.Л., Расулов М.М., 1978]. Местно на пораженные участки слизистой оболочки полости рта апплицировали раствор ретинола ацетата на 10-15 мин 2-3 раза в день. Внутрь (per os) назначали "Аевит" по 1 капсуле 2 раза в день аналогичными курсами.

Всем больным проводили общеклиническое, стоматологическое и иммунологическое обследование в динамике лечения. Клиническая часть работы проведена в клинике кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний МГМСУ.

Лабораторные исследования иммунного статуса, уровня кортизола, иммунофенотипирования поверхностных эпителиоцитов СОПР проводили на базе лаборатории иммунофармакологии РОНЦ им.Н.Н.Блохина РАМН (зав.лаб.-д.б.н. О.А. Бочарова). Исследование интерферонового статуса выполняли в отделе интерферонов и цитокинов НИИЭиМ им.Н.Ф.Гамалеи РАМН (зав.отделом-акад. РАМН, проф.Ф.И.Ершов).

При стоматологическом обследовании больных лейкоплакией СОПР выясняли жалобы, анамнез заболевания, жизни, наличие профессиональных вредностей, вредных привычек, гигиенических навыков, перенесенные и сопутствующие заболевания, проведенное ранее лечение основного заболевания и его эффективность. Проводили внешний осмотр больных лейкоплакией СОПР, пальпацию регионарных лимфатических узлов (околоушных, поднижнечелюстных, шейных, надключичных), отмечался их размер, консистенция, подвижность, болезненность. Определяли состояние красной каймы губ (цвет, нарушение целостности, наличие корочек, эрозий, изъязвлений). Оценивали состояние слизистой оболочки преддверия и собственно полости рта (цвет, блеск, влажность, рельеф), выявляли локализацию, выраженность и форму элементов поражения, распространенность патологического процесса. Выявляли состояние сосочкового рельефа языка. Для оценки гигиенического состояния полости рта использовали индекс гигиены (ИГ) Green-Vermilliona 1964г. Состояние зубов и пародонта определяли визуально и с помощью клинических индексов: индекс распространенности и интенсивности кариеса (КПУ),

пародонтальный индекс (по Russel, 1956г.). Заполняли зубную формулу. Обращали внимание на наличие другой стоматологической патологии СОПР, наличие в полости рта ортопедических конструкций, их функциональное состояние и вид конструкционных материалов.

Для оценки иммунного статуса изучали иммунологические показатели периферической крови, используя непрямую реакцию иммунофлюоресценции (РИФ). Используемые в работе антитела приведены в таблице 1.

Таблица 1.
Моноклональные антитела, используемые в работе

МКА	Кластер дифференцировки	Клеточная специфичность
ICO-90	CD 3	Т-лимфоциты
ICO-86	CD4	Хелперные/индукторные Т-лимфоциты
ICO-31	CD8	Супрессорные/цитотоксические Т-лимфоциты
ICO-1	HLADR	HLA-антигены II класса; В-лимфоциты всех этапов дифференцировки
ICO-180	CD20	В-лимфоциты
ICO-GM1	CD11b	α -цепь молекул Mac-1; семейства интегринов, подсемейство лейкоцитарных интегринов (гранулоциты; моноциты; НК-клетки)
ICO-108	CD18	β 2-гетеродимер молекул Mac-1 и LFA-1, подсемейство лейкоцитарных интегринов, семейства интегринов
ICO-184	CD54 (ICAM-1)	Адгезивный лиганд моноцитов, лимфоцитов
ICO-116	CD16	Нейтрофилы, НК-клетки
ICO-60	CD50 (ICAM-3)	Малые Т- и В- лимфоциты, тимоциты. Молекула адгезии лейкоцитов
ICO-160	CD95(Fas/APO-1)	Антиген, опосредующий апоптоз
ICO-105	CD25	Активированные Т- и В- лимфоциты и макрофаги
H4	Пан кератин	Маркер эпителиальных клеток
E3	Кератин 17	Маркер эпителиальных базальных клеток
K20	CD29	β 1- гетеродимер VLA-антигенов, семейства интегринов

Антитела серии ICO любезно предоставлены проф. А.Ю.Барышниковым, E3 и H4 - проф. Ю.В.Васильевым, K20 - проф. L. Boumsell, Париж.

Характер нарушения тканевой дифференцировки эпителия слизистой оболочки полости рта при лейкоплакии изучали с помощью иммунофенотипирования (в непрямой РИФ), оценивая на поверхностных эпителиоцитах уровень экспрессии молекул адгезии (CD54, или ICAM-1, обеспечивающих неспецифические межклеточные взаимодействия и являющихся рецепторами для эффекторов иммунитета; CD29, обуславливающих контакты эпителиоцитов с внеклеточным матриксом), дифференцировочного белка кератина 17; а также CD95, Fas APO-1 антигена, опосредующего апоптоз. Панкератин-специфические моноклональные антитела использовали для подтверждения эпителиального происхождения исследуемых клеток.

Уровень кортизола в крови определяли с помощью радиоиммунологического анализа.

Оценку интерферонового (ИФН) статуса проводили биологическим методом по двум ступеням: количественной (определение уровня интерферона α , γ и др.) и качественной (влияние разных препаратов интерферона и их индукторов *in vitro* на интерферогенез) [Ершов Ф.И., 1996].

При анализе полученных цифровых данных использовали статистический пакет ANOVA. При данном способе статистической обработки результатов вычисляется абсолютное значение вероятности отсутствия различий сравниваемых выборок.

Результаты собственных исследований и обсуждение

1. Результаты клинического стоматологического обследования. При обследовании были выявлены различные клинические формы лейкоплакии СОПР (по классификации Машкилейсона А.Л., 1984): плоская, веррукозная, эрозивно-язвенная.

Распределение больных лейкоплакией СОПР по клиническим формам заболевания представлены в таблице 2.

Таблица 2.

**Распределение больных лейкоплакией СОПР по
клиническим формам заболевания**

Форма лейкоплакии СОПР	Кол-во больных	Пол (%)		Средний возраст	Длительность заболевания (годы)
		муж	жен		
Плоская	18	44	56	36.2 ± 6.6	3.5 ± 1.4
Веррукозная	29	72	28	55.1 ± 4.1	12.2 ± 2.7
Эрозивно-язвенная	7	71	29	59.3 ± 7.2	7.8 ± 3.1
Группа в целом	54	62	37	50.2 ± 6.0	7.8 ± 2.2

Наличие сопутствующей патологии, выявленной у больных лейкоплакией, отражено в таблице 3.

Таблица 3.

Сопутствующая патология у больных лейкоплакией СОПР

Формы лейкоплакии	Заболевания внутренних органов и систем организма								
	Число больных	ЖКТ	ССС	Урологические	Гинекологические	Эндокринные	Аллергические	Онкологические	Сочетанные патологии
Плоская	18	4	2	2	2	2	1	-	2
Веррукозная	29	7	6	2	3	5	2	1	4
Эрозивно-язвенная	7	3	4	2	2	2	2	1	5
Группа в целом	54	14	12	6	7	9	5	2	11

Оценка стоматологического статуса больных представлена в таблице 4

Распределение больных в зависимости от локализации процесса на СОПР представлено в таблице 5.

Таблица 5.

Локализация очага лейкоплакии на слизистой оболочке полости рта различными формами заболевания

Форма лейкоплакии	Область слизистой оболочки полости рта							
	Щека	Язык	Ретромолярная область	Красная кайма губ	Твердое небо	Альвеолярный отросток в/ч	Альвеолярная часть н/ч	Дно полости рта
Плоская	7	1	2	5	1	-	-	2
Веррукозная	4	6	2	-	1	6	2	8
Эрозивно-язвенная	3	2	-	2	-	-	-	-
Всего:	14	9	4	7	2	6	2	10

Таким образом, представленные в таблицах результаты клинического стоматологического обследования больных лейкоплакией СОПР с определением клинических индексов свидетельствуют о неудовлетворительном состоянии гигиены полости рта ($ИГ=2.6\pm 0.04$). К тому же, большинство пациентов не владели информацией о правильном индивидуальном уходе за полостью рта.

Нами отмечено, что некоторые больные не проявляли интереса к состоянию своего здоровья, не выполняли рекомендуемое им ранее лечение. У больных лейкоплакией СОПР выявлена большая распространенность (88%) и высокая интенсивность ($КПУ=19.6\pm 2.7$) кариеса, наличие заболеваний пародонта воспалительного характера ($ПИ=3.0\pm 0.04$).

Ортопедические конструкции в полости рта имели 64% больных лейкоплакией СОПР, из них 83% имели функционально неполноценные протезы.

Травмирующие факторы (острый край зуба, пломбы, коронки, частичного или полного съемного протеза, привычное прикусывание и т.д.) выявлены нами у 26% больных лейкоплакией.

Из анамнеза было установлено, что 19% больных лейкоплакией СОПР имели и другие поражения слизистой оболочки полости рта (ХРАС, герпетическая инфекция, кандидоз). Чаще у этих больных встречался кандидоз в виде хронической атрофической формы.

На основании проведенного клинического стоматологического обследования можно сделать заключение, что больные, страдающие лейкоплакией СОПР, нуждаются в проведении индивидуальной и профессиональной гигиены, санации полости рта, включающей рациональное протезирование; комплексном лечении, динамическом наблюдении врача-стоматолога, других специалистов для улучшения стоматологического здоровья, формирования правильной мотивации к поддержанию индивидуальной гигиены и лечению заболевания слизистой оболочки полости рта, необходимых для улучшения качества жизни.

2. Результаты исследования лабораторных показателей до и после лечения

Результаты исследования **иммунного статуса** представлены в таблице 6.

Исследование иммунного статуса выявило нарушения иммунологических показателей клеточного, гуморального иммунитета и неспецифических факторов защиты у пациентов всех обследуемых групп. Возможно, низкий уровень иммунитета связан со стрессорным влиянием на население окружающей среды (социальные условия, экологические проблемы, особенности организации здравоохранения в современных условиях, характер питания и качество продуктов, образ жизни и т.д.). Следует отметить, что достоверных различий между исходным состоянием изучаемых показателей во всех группах обследуемых получено не было. Поэтому можно сделать вывод о том, что специфических нарушений показателей иммунитета у больных лейкоплакией с разными клиническими формами заболевания нами не выявлено.

После проведенного лечения с использованием ФМ-40 у пациентов основной группы наблюдалась нормализация показателей иммунного статуса: увеличение общего числа Т-лимфоцитов (CD3), хелперов-индукторов (CD4), рост хелперно-супрессорного соотношения (CD4/CD8), восстановление показателей гуморального иммунитета (CD20, HLA Dr), повышение числа натуральных киллеров (CD16), числа моноцитов (CD11b).

Вместе с тем выявлены закономерные параллели между изученными параметрами. Увеличение числа Т-хелперов определено параллельно с усилением экспрессии рецепторов к интерлейкину-2 (CD25). Повышение числа зрелых лимфоцитов (CD50) коррелировало с ростом экспрессии молекул, опосредующих апоптоз (CD95).

У больных, в лечении которых применялись препараты витамина «А», иммуномодулирующее действие выявлено только в отношении Т-хелперов. Остальные параметры имеют лишь тенденцию к изменению.

Изменения изучаемых показателей иммунитета в контрольной группе под влиянием приема препарата «Фитомикс-40» были аналогичны динамике в основной группе.

Таким образом, результаты исследования показали, что ФМ-40 модифицирует показатели иммунного статуса. Характер изменений позволяет считать «ФМ-40» не стимулятором, а именно модулятором иммунитета, что является характерной чертой растительных адаптогенов.

При оценке *ИФН-статуса* у всех больных лейкоплакией и лиц контрольной группы выявлена распространенная картина нарушения системы интерферона, характеризующаяся определенной степенью повышения титра циркулирующего ИФН с одновременным подавлением ИФН-продуцирующей способности иммуноцитов, которая наблюдается при стрессах, вирусных и бактериальных инфекциях, рецидивирующих аллергических заболеваниях и др. (таблица 7). Специфических изменений со стороны ИФН-статуса для больных лейкоплакией не выявлено.

Динамика изменений показателей ИФН-статуса под влиянием лечения препаратом «ФМ-40» в основной и контрольной группах пациентов сопоставима и характеризуется нормализацией изучаемых показателей. Полученные данные согласуются с результатами изменения показателей иммунного статуса. Увеличение количества ИФН- α коррелирует с ростом числа В-клеток и натуральных

киллеров. Исследования показали, что у пациентов повышение титра ИФН- γ сопровождается ростом числа хелперов-индукторов, снижением супрессоров, нормализацией моноцитарного пула.

Наряду с этим, нами установлен факт отсутствия индивидуальной толерантности и привыкания к ФМ-40 (таблица 8). Более того, после проведенного курса лечения с использованием ФМ-40 число пациентов, клетки крови которых отвечали выработкой ИФН, существенно повысилось не только в отношении препаратов, содержащих ИФН (реаферон, реалдирон, лейкинферон и т.д.), но и его индукторов (ридостин, неовир, циклоферон, амиксин).

Вместе с тем использование в стандартной схеме лечения лейкоплакии СОПР препаратов витамина «А» не вызывало положительных изменений ИФН-статуса пациентов.

Результаты определения **уровня кортизола** в периферической крови больных до лечения показали, что уровень гормона кортизола превышал физиологическую норму для всех групп обследуемых, что отражает нарушения гомеостаза при стрессовых состояниях организма. Использование препаратов витамина «А» при лечении лейкоплакии не вызывало коррекции выявленного у пациентов высокого уровня гиперкортицизма. В то же время применение ФМ-40 в основной и контрольной группах приводило к нормализации высокого уровня кортизола (таблица 9).

Таблица 9.

Уровень кортизола в периферической крови больных с лейкоплакией СОПР

Группы пациентов	Уровень кортизола (НМоль/мл)		Р
	До лечения	После лечения	
Основная группа	980,6±54,1	597,7±52,2	0,002
Группа сравнения	941,7±66,8	909,6±57,1	0,294
Контрольная группа	819,6±63,0	599,6±54,3	0,001
Норма	130-750		

Жирным шрифтом обозначены значимые достоверности различий.

Изучение экспрессии **дифференцировочных антигенов поверхностных эпителиоцитов СОПР** отражено в таблице 10.

У пациентов контрольной группы без патологии СОПР нами

выявлен рисунок экспрессии изучаемых антигенов. Эти результаты были взяты за физиологическую норму.

Установлено, что при лейкоплакии СОПР изученные показатели отличаются от нормы. Отмечено увеличение экспрессии кератина 17, снижение экспрессии CD95-антигена. В то же время экспрессия молекул CD54 и CD29 при лейкоплакии не изменяется по сравнению со здоровой СОПР.

Полученные результаты исследования экспрессии дифференцировочных антигенов эпителиоцитов СОПР у здоровых и больных лейкоплакией позволяют предположить патогенетические механизмы заболевания. Увеличение экспрессии кератина 17 предполагает увеличение пролиферативного пула клеток СОПР и образование эрозий. Подавление экспрессии CD95-антигена, возможно, вносит свой вклад в утрату контроля за клеточным гомеостазом ткани путем снижения способности индуцировать апоптоз. При этом уровень молекул неспецифической адгезии CD54, являющихся рецепторами для иммунных эффекторов, не изменяется, что экранирует патологически измененные клетки от иммунологического надзора.

Использование ФМ-40 в комплексном лечении больных лейкоплакией приводило к нормализации экспрессии всех изучаемых антигенов. Вместе с тем экспрессия CD54 возрастала, что в конечном итоге приводило к лизису патологического очага, вероятно, в результате активизации иммунных эффекторов. Лечение больных с использованием препаратов витамина "А" не вызывало статистически достоверных изменений изучаемых показателей.

3. Клиническая эффективность различных схем комплексного лечения больных лейкоплакией СОПР

При оценке клинической эффективности лечения больных с лейкоплакией СОПР мы учитывали динамику как субъективных симптомов (жалобы, отношение к применяемому лечению и т.д.), так и объективных признаков (размер и плотность, цвет очагов гиперкератоза, сроки эпителизации эрозий СОПР, длительность ремиссии (заболевания) пациентов).

Таблица 10.

**Результаты иммунофенотипирования поверхностных эпителиоцитов СОПР у пациентов
обследуемых групп**

Исследуемые показатели	Контрольная группа			Основная группа			Группа сравнения		
	До приема ФМ-40 M±m	После приема ФМ-40 M±m	P1	До лечения M±m	После лечения M±m	P2	До лечения M±m	После лечения M±m	P3
CD29	1.7±0.4	1.4±0.6	0.650	1.8±1.1	1.3±0.6	0.376	1.4±1.2	1.9±0.7	0.668
CD54	3.9±1.4	3.5±0.8	0.141	3.4±2.7	9.0±1.7	0.046	4.2±2.0	4.6±2.3	0.137
CD95	10.1±2.2	11.4±2.3	0.792	3.8±1.3	7.9±2.1	0.020	4.6±1.3	4.8±0.8	0.820
Кератин 17	1.6±0.4	1.2±0.3	0.492	8.4±2.6	0.9±0.6	0.039	9.3±2.7	3.2±0.8	0.066

Жирным шрифтом обозначены значимые достоверности различий.

Результаты лечения представлены на рисунке 1.

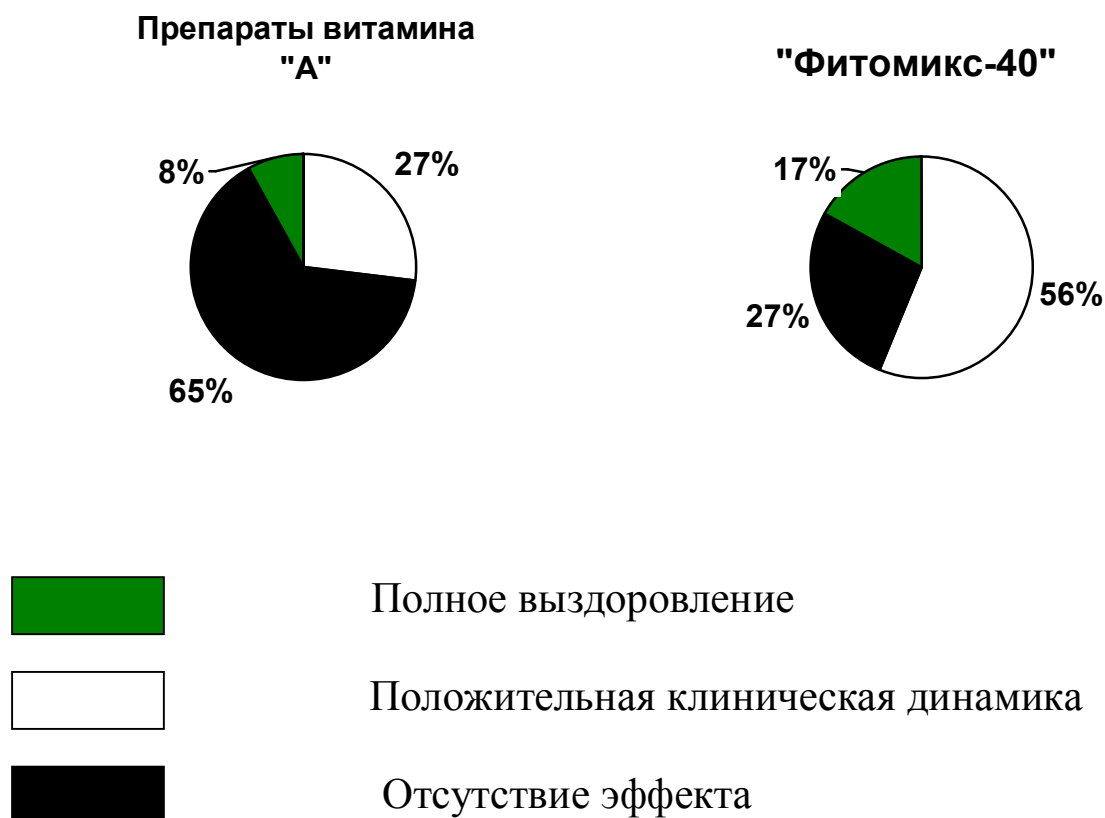


Рис1. Сравнительная клиническая эффективность комплексного лечения лейкоплакии СОПР с использованием "Фитомикс-40" и препаратов витамина "А".

При лечении больных лейкоплакией СОПР с применением ФМ-40 полное выздоровление наблюдалось в 17% случаев. При этом больные жалоб не предъявляли. Очаги лейкоплакии подвергались инволюции. СОПР у больных приобретала розовый цвет, становилась блестящая, влажная.

У большинства больных (56%) под влиянием лечения отмечена положительная динамика. Клиническое улучшение проявлялось в уменьшении размеров и плотности очага гиперкератоза, активации регенераторных процессов, полной эпителизации эрозивных поверхностей.

Состояние без улучшения наблюдали у 27% больных.

В группе сравнения при лечении больных препаратами витамина «А» наблюдалось клиническое выздоровление у 8% больных. Положительная клиническая динамика отмечена у 27% больных,

которая проявлялась в виде эпителизации эрозий, смягчении очагов гиперкератоза, повышении комфорта в полости рта. Позитивных изменений со стороны клинической картины заболевания не выявлено у 65% больных.

Следует отметить, что все пациенты, принимавшие «ФМ-40» (в том числе лица контрольной группы), отмечали улучшение общего самочувствия, сна, повышение настроения и работоспособности. Кроме того, пациенты указывали на хорошие органолептические свойства препарата, его дезодорирующий эффект.

Таким образом, нами впервые в комплексном лечении лейкоплакии СОПР был успешно применен «ФМ-40». Клинические наблюдения и результаты лабораторных исследований в динамике лечения показали высокую клиническую эффективность и выраженные адаптогенные свойства «ФМ-40».

Заключение. Анализ результатов собственных исследований и научной литературы позволяет сделать заключение, что при лейкоплакии наблюдается нарушение программы дифференцировки эпителия СОПР. Усиление ороговения эпителиальных клеток и снижение степени апоптоза на данном этапе не может отражаться на экспрессии CD54-антигена, являющегося рецептором для эффекторов иммунитета, также как и на экспрессии CD29. В связи с этим в данных условиях не происходит стимуляции иммунной реактивности. Так патологический очаг СОПР в предопухоловой стадии процесса защищен от лизиса местными и общими (иммунными) механизмами.

Вместе с тем результаты работы и данные литературы [Ota T., Fujikama K., Zong Z., et al., 1987; Бочарова О.А., Серебрякова Р.В., Бодрова Н.Б. и др.1994] позволяют предположить механизм лечебного действия «Фитомикс-40», который опосредован тканеспецифическими и неспецифическими адгезионными взаимодействиями, нормализация которых инициирует восстановление программы дифференцировки эпителия СОПР.

Помимо специфических изменений, характерных для изучаемого заболевания, выявлен неспецифический гиперкортицизм, коррелирующий с неспецифически низким уровнем иммунитета у всего обследуемого контингента пациентов.

При использовании «Фитомикс-40» показаны его адаптогенные свойства. В связи с этим можно говорить об антистрессорном

действии препарата ФМ-40, основанном на его иммуно-, гормономодулирующей и интерфероногенной активности.

Выявленные в нашей работе закономерности имеют диагностическое, лечебно-профилактическое и прогностическое значение для больных лейкоплакией СОПР.

Таким образом, результаты проведенных исследований являются основанием для рекомендации ФМ-40 к использованию в комплексном лечении больных лейкоплакией СОПР. Кроме того, выявленные свойства изучаемого препарата и лечебный эффект в отношении предрака (лейкоплакии) позволяют отнести «Фитомикс-40» к средствам профилактики онкологических заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. Результаты клинического стоматологического обследования показали, что больные лейкоплакией имеют низкий уровень стоматологического здоровья: неудовлетворительное гигиеническое состояние ($ИГ=2.6\pm 0.04$), большую распространенность (88%) и высокую интенсивность ($КПУ=19.6$) кариеса, воспалительно-дистрофические изменения в пародонте ($ПИ=3.0\pm 0.04$).
2. Лейкоплакия слизистой оболочки полости рта характеризуется изменением программы дифференцировки эпителия при отсутствии специфических нарушений со стороны иммунной системы.
3. В патологическом очаге слизистой оболочки полости рта при лейкоплакии снижено число клеток с экспрессией Fas APO1-антигена; повышен клеточный пул с экспрессией кератина 17; количество эпителиоцитов с экспрессией молекул CD54 и CD29 остается низким, как и при физиологической норме.
4. У больных лейкоплакией слизистой оболочки полости рта не выявлено специфических изменений в иммунном, интерфероновом статусе и в уровне гормона кортизола.
5. Применение «Фитомикс-40» в комплексной терапии больных лейкоплакией слизистой оболочки полости рта повышает эффективность лечения по сравнению с препаратами витамина «А». При этом клиническое выздоровление в обеих группах больных отмечено в 17% и 8% случаев соответственно, положительная клиническая динамика - у 56% и 27% больных.

6. Фитомикс-40 в клетках эпителия патологического очага слизистой оболочки полости рта подавляет экспрессию кератина 17, увеличивает число клеток с экспрессией FAS APO1-антигена и молекул адгезии CD54, не влияет на экспрессию CD29. Препараты витамина "А" снижают экспрессию кератина 17 и не изменяют другие изученные показатели эпителиоцитов.
7. «Фитомикс-40» является адаптогенным препаратом, способствует коррекции иммунного, интерферонового статуса и гиперкортицизма. Не вызывает индивидуальной толерантности и привыкания.
8. Повышение эффективности лечения лейкоплакии как предраковой патологии с помощью «Фитомикс-40» дает основания для определения его как средства профилактики онкологических заболеваний.

Практические рекомендации.

1. В комплексной терапии больных лейкоплакией слизистой оболочки полости рта целесообразно использование "Фитомикс-40".
2. Рекомендовано применение «Фитомикс-40» курсами по следующей схеме: per os 15 мл препарата (+ 5 мл воды) за 15-20 мин до еды 3 раза в день. Курс приема составляет 1,5 месяца. Всего пациентам проводится 3-4 курса с двух-недельным перерывом. При проведении каждого последующего курса ежедневная доза препарата увеличивается на 5 мл. Для максимально долгого местного контакта с пораженной слизистой оболочкой пациентам рекомендуется перед проглатыванием держать его во рту в течение 10-15 минут.
3. Результаты фенотипирования эпителиоцитов слизистой оболочки полости рта можно использовать для диагностики и прогноза заболевания. Выявление в цитологических препаратах повышенного уровня экспрессии кератина 17 и снижение экспрессии Fas APO-1антигена может являться критерием неблагоприятного прогноза течения лейкоплакии СОПР.

Список опубликованных работ

1. Бочарова О.А., Карпова Р.В., Чекалина Т.Л., Лыженкова М.А., Полунина Л.Г., Комарова Т.С. // Обоснование иммуномодулирующих

свойств препарата Фитомикс-40. – Russian Journal of Immunology. - 1999. – Vol. 4. – Supplement 1. - p. 303.

2. Бочарова О.А., Пожарицкая М.М., Мезенцева М.В., Чекалина Т.Л., Лыженкова М.А., Оспельникова Т.П., Цветнова М.В., Филиппова Т.Г.//Модуляция иммунного и интерферонового статусов растительными адаптогенами у больных оральной лейкоплакией. – Русский журнал ВИЧ/СПИД и родственные проблемы. – 2000 г. – Т.4. - № 1. – с.107, 157.

3. Бочарова О.А., Пожарицкая М.М., Мезенцева М.В., Чекалина Т.Л., Лыженкова М.А., Оспельникова Т.П., Цветнова М.В., Филиппова Т.Г.//Иммуномодулирующие аспекты действия растительных адаптогенов при лечении оральной лейкоплакии. – там же – с.36-37.

4. Пожарицкая М.М., Бочарова О.А., Чекалина Т.Л., Карпова Р.В., Бибики С.М., Волчкова Л.В. Новые подходы к лечению предраковых заболеваний слизистой оболочки полости рта.//Российский научный форум с международным участием:”Стоматология на пороге третьего тысячелетия”.-Москва.-6-9.02.2000.-с.237-238.

5. Karpova R., Vocharova O., Chekalina T., Zubrikhina G.N.//The hematological effects of Phytomix – 40 (Гематологические эффекты Фитомикс-40). Farmaceutvski vestnik.- 1999.- Vol. 50.- p. 380-381.

6. Vocharova O.A., Karpova R.V., Mezentseva M.V., Chekalina T.L., Lyzhenkova M.A., Ospelnikova T.P., Tsvetnova M.V., Philippova T.G., Pozharitskaya M.M.//Therapeutic efficacy of Phytomix – 40 per os administration in subjects with oral leukoplakia (Терапевтическая эффективность Фитомикс-40 при лечении больных оральной лейкоплакией). – 10th International Pharmaceutical Technology Symposium.- Istanbul, Turkey – 11-13 September 2000.-p.179-180.

7. Vocharova O.A., Pozharitskaya M.M., Karpova R.V., Mezentseva M.V., Chekalina T.L., Lyzhenkova M.A., Philippova T.G., Ospelnikova T.P., Tsvetnova M.V.//PHYTOMIX – 40 is suggested as a preventive cancer agent (Фитомикс-40 как средство профилактической онкологии). –11th NCI-EORTC-AACR symposium on new drugs in cancer therapy.- Amsterdam.-7-10 November, 2000.

8. Vocharova O., Matveev B., Karpova R., Matveev V., Chekalina T., Lyzhenkova M., Polunina L., Komarova T., Baryshnikov A. // The search of the effective doses of “Phytomix – 40” as biological response modifier
Выявление эффективных доз ФМ-40, модифицирующих

биологические показатели организма). – Proc. 3rd World Meeting APV/APGI on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. – Berlin. – 3/6 April 2000. – p.963-964.

Таблица 4

Стоматологический статус больных лейкоплакией СОПР

		Распро стране	Индекс	Некар иозны	Состояние пародонта	Ортопедические конструкции	Наличие травмирую	П р
--	--	------------------	--------	----------------	---------------------	-------------------------------	----------------------	--------

					ПИ (Russel)	Хронический атаральный генерализованный гингивит	Хронический генерализованный пародонтит	Удовлетворительного состояния	Подлежащие замене		
Плоская	2.0±0.03	64	15.2±1.6	4	3.2±0.02	2	16	2	8	11	2
Веррукозная	3.8±0.05	100	21.3±3.4	6	3.0±0.04	4	22	7	13	8	5
Эрозивно-язвенная	2.0±0.05	100	22.3±3.1	2	2.9±0.07	-	3	2	3	7	3
Группа в целом	2.6±0.04	88	19.6±2.7	12	3.0±0.04	6	41	11	24	26	10

Таблица 6.

Результаты изменения показателей иммунитета у всех групп обследуемых в динамике лечения

Антигены	Норма (%)	Основная группа (%)			Группа сравнения (%)			Контрольная группа (%)		
		До лечения	После лечения	P1	До лечения	После лечения	P2	До лечения	После лечения	P3
CD3	60-75	61.6±3.0	69.2±1.9	0.016	62.4±3.6	67.5±4.5	0.207	63.3±3.1	69.4±3.4	0.024
CD4	35-46	31.6±2.7	43.8±1.6	0.020	34.9±1.2	41.4±1.6	0.048	32.3±2.8	46.9±2.2	0.058
CD8	25-30	29.6±2.1	23.6±1.3	0.013	30.1±4.5	26.0±2.0	0.127	29.8±1.0	26.0±1.4	0.007
CD4/CD8	1.5-1.9	1.2±0.1	1.9±0.1	0.001	1.2±0.2	1.9±0.2	0.024	1.4±0.1	1.8±0.1	0.037
CD20	5-15	3.5±0.6	8.0±1.0	0.056	4.5±1.6	7.0±1.3	0.145	4.7±2.9	12.3±3.4	0.085
HLADr	7-15	7.9±0.7	10.6±1.2	0.052	5.8±1.2	7.5±1.2	0.108	8.3±0.6	11.4±0.9	0.027
CD16	10-20	9.7±1.8	18.8±2.1	0.020	7.2±2.9	8.8±2.8	0.239	8.5±1.7	16.8±2.0	0.008
CD11b	15-20	10.5±2.9	19.3±1.6	0.015	12.1±2.1	10.2±2.3	0.138	11.7±1.3	18.8±1.5	0.055
CD18	56-64	46.5±3.7	64.9±5.8	0.001	48.6±4.2	53.8±8.2	0.133	44.0±6.9	67.0±5.2	0.010
CD50	70-99	65.2±3.8	92.6±1.8	0.019	52.9±5.2	74.6±3.3	0.071	71.4±4.6	92.7±2.2	0.046
CD25	0-5	2.6±0.6	5.4±0.9	0.022	1.8±0.6	2.8±0.8	0.069	3.0±0.3	4.8±0.5	0.009
CD95	10-30	8.5±3.9	21.0±3.8	0.059	11.0±4.7	13.9±5.0	0.211	13.8±2.0	29.9±1.6	0.015

Жирным шрифтом обозначены значимые достоверности различий.

Таблица 7.

Результаты изменения показателей ИФН-статуса обследуемых в динамике лечения

Интерфероновая реакция лейкоцитов	Норма для взрослых МЕ/мл	Количество пациентов с уровнем ИФН в пределах нормы, % (титры ИФН, МЕ/мл)								
		Основная группа			Группа сравнения			Контрольная группа		
		До лечения	После лечения	P1	До лечения	После лечения	P2	До лечения	После лечения	P3
ИФН в сыворотке крови	< 2-8	62 (12.3±0.7)	92 (7.4±2.2)	0.053	57 (14.4±2.3)	55 (10.5±1.8)	0.192	73 (10.0±2.6)	96 (4.2±1.2)	0.008
Спонтанный ИФН	< 2	100 < 2	100 < 2	-	100 < 2	100 < 2	-	91	100	-
ИФН-α	64-640	0 (23.1±3.5)	38 (61.5±13.7)	0.012	0 (24.5±3.9)	9 (29.1±4.7)	0.326	9 (34.6±7.6)	45 (85.5±26.2)	0.053
ИФН-γ	32-64	0 (7.9±1.7)	54 (28.3±5.1)	0.01	0 (9.0±3.7)	5 (12.5±2.4)	0.722	0 (10.9±2.3)	37 (26.2±5.2)	0.014

Жирным шрифтом обозначены значимые достоверности различий

Уровень кортизола в периферической крови больных с лейкоплакией СОПР

Группы пациентов	Уровень кортизола (НМоль/мл)		Р
	До лечения	После лечения	
Основная группа	980,6±54,1	597,7±52,2	0,002
Группа сравнения	941,7±66,8	909,6±57,1	0,294
Контрольная группа	819,6±63,0	599,6±54,3	0,001
Норма	130-750		