

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

Державна установа «ІНСТИТУТ СТОМАТОЛОГІЇ ТА

ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ХІРУРГІЇ НАМН УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ВИШНЕВСЬКА Ганна Олександрівна

УДК 616.314.17-008.1]611.08+65.012.1+612-092.6

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЇ ТЕРАПІЇ У
КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ОСІБ З ХРОНІЧНИМ**

ГЕНЕРАЛІЗОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ

(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

14.01.22 – стоматологія

Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Вишневська Г.О.
(підпис)

Науковий консультант: Шнайдер Станіслав Аркадійович, доктор медичних
наук, професор

Одеса – 2021

АНОТАЦІЯ

Вишневська Г.О. Патогенетичне обґрунтування регенеративної терапії у комплексному лікуванні осіб з хронічним генералізованим пародонтитом (експериментально-клінічне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.22 «Стоматологія» (221 – Стоматологія). – ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України», Одеса, 2021.

Дисертаційна робота присвячена експериментально - клінічному обґрунтуванню нової концепції лікування хронічного генералізованого пародонтиту (ХГП) II – III ступеня важкості шляхом застосування регенеративних методик.

Для досягнення мети і реалізації завдань дослідження було проведено комплекс клініко-експериментальних досліджень.

Проведено 5 серій експериментальних досліджень, в яких було використано 298 білих щурів стадного розведення.

Перший експеримент проведено з метою оцінки на «Перекисній моделі» пародонтиту впливу ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми на метаболічні зміни в тканинах пародонта і в організмі в цілому.

Метою другого експерименту була оцінка регенеративних можливостей консервативних методик плазмогелю та гіалуронової кислоти на біохімічні та морфологічні зміни в пародонтальному комплексі на «Лігатурній моделі» пародонтиту.

Для оцінки хірургічних регенеративних методик було відтворено три моделі дефектів: модель дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка; модель дефекту альвеолярної кістки; модель мукогінгівального дефекту.

Біохімічні дослідження проводили в надосадовій рідині гомогенатів тканин ясен, альвеолярного відростка та сироватці крові експериментальних тварин.

У сироватці крові щурів визначали активність еластази, каталази, аланін-амінотрансферази (АлАТ), аспартат-амінотрансферази (АСТ), лужної фосфатази та вміст малонового діальдегіду (МДА), загальну протеолітичну активність, вміст інгібітору трипсину.

Біохімічні показники в гомогенатах кістки нижньої щелепи щурів включали аналіз активності лужної фосфатази, кислої фосфатази, вміст кальцію і фосфору.

Біохімічні показники в яснах щурів включали аналіз загальної протеолітичної активності (ЗПА), інгібітору трипсину, активності еластази, каталази і вміст гіалуронової кислоти та МДА.

Морфометричні дослідження включали визначення ступеня атрофії альвеолярного відростка щелеп.

Об'єктом морфологічних досліджень при оцінці регенеративних хірургічних методик служили шматочки тканини нормальної і децелюляризованої амніотичної мембрани людини (ДАМ), слизова альвеолярного відростка з штучно створеним дефектом, кісткова тканина нижньої щелепи з штучно створеним дефектом, а також кісткова тканина з дефектом кістки покритим ДАМ, ДАМ + плазма, збагачена тромбоцитами (PRP), ДАМ + PRP + гіалуронова кислота (ГК). При оцінці консервативних регенеративних методик забирали біоптати ясен та щелепної кістки та фіксували їх в 10 % нейтральному формаліні. Потім проводили стандартну обробку тканини для заливки в парафін, готували зрізи, фарбували їх по Маллорі, по Массону, гематоксиліном і еозином, досліджували під мікроскопом зі збільшенням окуляр x10, об'єктив x10, збільшення x100, x200 і x400. Проводили кількісну оцінку новоутворених судин методом трансїлюмінації.

У клінічному обстеженні всього прийняли участь 260 пацієнтів з ХГП, з них були відібрані 147 пацієнтів для участі у дослідженні ефективності лікування консервативними та хірургічними регенеративними методиками.

Клінічне обстеження пацієнтів включало в себе виявлення скарг, збір анамнезу життя. Для об'єктивної оцінки пародонтологічного статусу використовували пародонтальну карту, яку заповнювали за допомогою програми Florida Probe (США). Оцінку стану тканин пародонта здійснювали за допомогою електронного зонduючого пристрою програмно-апаратного комплексу Florida Probe. Після цього обчислювали такі індекси: індекс зубного нальоту (PL) О'Лірі, кровоточивість при зондуванні (індекс BOR), глибина зондування (ГЗ), глибину рецесії, індекс втрати ясеневого прикріплення (CAL), рухливість зубів (РЗ), стан кісткової тканини в області фуркації.

Діагностику мікрогемодинамічних змін в тканинах пародонта проводили методом ультразвукової доплерографії.

Біохімічними методами в ротовій рідині пацієнтів визначали активність лізоциму, уреаз, каталази, ЗПА, вміст гіалуронової кислоти та МДА. На підставі результатів визначення відносних активностей уреаз та лізоциму розраховували ступінь дисбіозу порожнини рота. За співвідношенням активності каталази та концентрації МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ), активність лужної (ЛФ) і кислої (КФ) фосфатаз.

В комплексне лікування пацієнтів крім базисної терапії (зняття зубних відкладень, згладжування поверхонь коренів за допомогою зоноспецифічних кюрет Грейсі з антисептичною обробкою порожнини рота 0,12% розчином біглюконату хлоргексидину) було включено призначення консервативної регенеративної терапії. Протоколи введення препаратів аутоплазми: АМК- 3 процедури, які проводилися з інтервалом в 7 днів; PRP- 3 процедури, інтервал введення - 7 днів; PPP- 5 процедур, інтервал введення 7 днів; i-PRF- 5 процедур, інтервал введення 7 днів. Консервативні методики комбінації плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми 3 процедури з інтервалом кожні 7 днів і одноразова інстиляція препарату ГК, а також плазмгель з інтервалом кожні 7 днів, одноразове введення препарату ГК і кожні 6 місяців у вигляді підтримуючої терапії ін'єкційне введення i-PRF по 5 процедур з інтервалом кожні 7 днів.

Хірургічне втручання у хворих обох груп проводили з використанням методу направленої регенерації кісткової тканини. В основній групі поверхні оголених коренів обробляли препаратом ПрефГель, після чого промивали пародонтальний дефект фізіологічним розчином, кісткові дефекти заповнювали остеопластичним матеріалом змішаним з препаратом гіалуронової кислоти, поверх пародонтального дефекту вкладали колагенову мембрану, оброблену з обох поверхонь плазмою з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту (PRP) та препаратом гіалуронової кислоти у групі порівняння направлену кісткову регенерацію проводили за стандартною методикою без використання PRP та препарату гіалуронової кислоти.

Ефективність запропонованих регенеративних методик оцінювали через 1, 6, 12 та 24 місяців.

Результати клінічних досліджень показали прогресування поглиблення пародонтальних кишень $5,19 \pm 0,22$ мм через 2 роки після лікування у групі порівняння при тому, що показник до лікування становив - $4,87 \pm 0,18$ мм.

Показники індексу гігієни на 29,95 % та кровоточивості в 2,9 разів зазнали вірогідного зниження у всіх групах пацієнтів.

Після проведеного лікування чітко видно, що покращення кровотоку відбулося, як в основній групі (через 1 рік – $1,217 \pm 0,035$ см/сек., через 2 роки – $1,297 \pm 0,061$ см/сек.), так і в групі порівняння (через 1 рік – $0,729 \pm 0,031$ см/сек., через 2 роки – $0,632 \pm 0,025$ см/сек.). На віддаленому терміні, через 2 роки, можна відмітити, що показник в групі порівняння поступово починає знижуватись, а в основній групі лишається так само на високому рівні.

На базі проведених експериментальних та клінічних досліджень, можна зробити висновок, що для довготривалого ефекту лікування генералізованого пародонтиту та регенерації комплексу пародонтальних тканин при застосуванні консервативних регенеративних методик найбільш вірогідний ефект показав комплекс препаратів плазмогелю, гіалуронової кислоти та ін'єкційне введення і-PRF, для підтримуючої терапії.

При хірургічних методах лікування були використані в експериментальній частині амніотична мембрана, а в клініці колагенові мембрани, у яких внутрішній шар з метою активізації утворення клітин сполучної тканини оброблений факторами росту. Колагенова мембрана активізує остеобласти і в більшій мірі стимулює зростання кістки. Колагенова мембрана в комбінації з факторами росту та гіалуроновою кислотою призводила до скорочення відновлення кістки альвеолярного відростка, що підтверджується не тільки клінічно, але і морфологічно.

В експериментальних умовах доведено, що ін'єкційне введення тромбоцитарної аутоплазми у другому терміні спостереження у щурів призводить до вірогідного зниження рівня МДА в 1,2 рази в яснах та в 1,4 рази в сироватці крові. При цьому активність каталази в яснах у щурів збільшується в 1,3 рази та у сироватці крові в 1,6 разів, що свідчить про нормалізацію процесів в системі ПОЛ -АОС. А також вірогідне підвищення активності ЛФ в 2 рази у щелепній кістці в обидва терміни спостереження ($p < 0,001$), що говорить про активацію процесу ремоделювання кістки ($p < 0,001$).

Результати морфологічних досліджень ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми показали двухфазність впливу на пародонтальні тканини. Одразу після завершення курсу ін'єкцій тромбоцитарної аутоплазми відзначається активація метаболічних та регенеративних процесів в пародонті, запускається активний процес ремоделювання кісткової тканини – посилення остеокластичної резорбції «старої» кістки та формування «нової» кістки. У віддалені терміни спостереження відбувається формування нового епітеліального прикріплення, відновлення структури сполучної тканини з великою кількістю новоутворених судин, стабілізація кісткової резорбції.

В дослідженні на «лігатурній» моделі пародонтиту було доведено, що застосування комплексу препаратів плазмогель та гіалуронова кислота має протизапальні властивості, про це свідчить вірогідне зниження ЗПА, як в I терміні у самок $1,0 \pm 0,08$ нкат / л і у самців $1,15 \pm 0,09$ нкат / л, так і в II терміні

у самок $0,78 \pm 0,04$ нкат / л і самців $0,84 \pm 0,07$ нкат / л, що майже дорівнює показникам норми.

Важливим для процесів відновлення тканин пародонта є стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ), зокрема зниження вмісту МДА у сироватці крові, у самок в першому терміні на 36,4 %, в другому терміні на 75,2 %, у самців в першому терміні на 50,0 %, у другому терміні на 74,2 % та збільшення активності каталази у самок в першому терміні на 43,2 %, в другому терміні на 56,6 %, у самців в першому терміні на 30,0 %, у другому терміні на 46,8 %. Зниження вмісту МДА, так само, відбувалось і в гомогенатах ясен у самок в першому терміні на 41,8 %, в другому терміні на 49,4 %, у самців в 1-му терміні на 38,7 %, у другому терміні 47,4 %. Активність каталази в тканинах ясен підвищувалась в першому терміні у самок на 36,3 %, у самців на 30,5 %, у другому терміні у самок на 80,0 %, у самців на 41,4 %.

Індекс АПІ в гомогенатах ясен при лікуванні плазмогелем та гіалуроновою кислотою у першому терміні збільшився у самок на 62,9 %, у самців на 57,4 %. Збільшення в другому терміні у самок відбулося на 71,8 %, у самців на 69,2 %.

У гомогенатах ясен групи лабораторних тварин, яких лікували плазмогелем та гіалуроновою кислотою вміст ГК підвищувався в першому терміні у самок на 27,7 % і у самців на 37,7 %, в другому терміні у самок на 66,8 %, у самців на 63,0 %.

При аналізі динаміки загоєння операційної рани по формулі Л.Н. Попової простежувалися такі особливості: у групі, де загоєння відбувалося з ДАМ, добове зменшення площі дефекту становило 6,6 % на 3 добу, 5,3 % на 5 добу, 4,8 % на 7 добу; в групі ДАМ + PRP добове зменшення площі рани становило 8,8 % на 3 добу, 6,6 % на 5 добу, 6,1 % на 7 добу; в групі ДАМ + PRP + ГК добове зменшення площі рани становило 8,8 % на 3 добу, 8 % на 5 добу, 6,6 % на 7 добу, що свідчить про те, що з 3 по 5 добу швидкість зменшення площі рани нижче, це говорить про фазу запалення. Потім при переході до II фази раньового процесу-фази регенерації (5-7 доба) площа рани стрімко

зменшувалася і до 14 діб спостерігалася повна епітелізація операційної рани у всіх групах. Інша картина спостерігалася в контрольній групі в період з 3-ї до 5-ї доби відбувалось зниження показника добового зменшення площі рани місцями менше 4 %, що свідчить про млявий або затяжний перебіг раньового процесу зі змінами періодів загострення і затихання зростання грануляцій та сповільненою епітелізацією.

Аналіз загоєння кісткового дефекту за результатами морфологічних досліджень показав, що регенерація кісткового дефекту через 2 місяці відбулась у тварин всіх трьох групах. Але на 14-й день в першій групі, на відміну від другої, третьої та четвертої груп, практично не відзначається судин. У третій групі на відміну від другої на 7-й день відзначається наявність запальних елементів, але при цьому вже виявляються ділянки новосформованої кістки, що вказує на активну регенерацію кісткової тканини. В четвертій групі так само довше ніж у 1 та 2 групах присутні елементи запалення, але і в більш ранні строки відмічається поява новосформованої кістки та більша кількість судин. Це дає можливість рекомендувати використання додаткових біологічно активних матеріалів, децелюляризованої амніотичної мембрани, факторів росту PRP та гіалуронової кислоти для відновлення кісткової тканини при пародонтальних дефектах.

Вже на 7 добу на відміну від тварин контрольної групи у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP, а також ДАМ + PRP + ГК мукогінгівальний дефект не визначався, а новостворений епітелій за формою і кольором не відрізнявся від норми. Згладжування епітеліального шару ясен спостерігалось зі злегка вираженою кератинізацією.

Проведення експериментальних досліджень на різних моделях патології пародонта за допомогою біохімічних та морфологічних методів дозволили обґрунтувати доцільність призначення комбінованої методики застосування препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти на етапі консервативного лікування, а також комбінованого посилення регенеративної дії під час хірургічного лікування при комбінуванні остеопластичних матеріалів,

колагенової мембрани, тромбоцитарних факторів росту та гіалуронової кислоти.

Отримані результати дозволяють зробити висновок про ефективність консервативної та хірургічної регенеративної терапії при лікуванні хворих на ХГП II-III ступеня важкості, яка сприяє ліквідації запалення в тканинах пародонта, нормалізації антиоксидантних процесів ротової порожнини і ферментативної активності ротової рідини, поліпшенню мікроциркуляції, зменшенню прогресування резорбції кісткової тканини, що призводить до тривалої стабілізації дистрофічно-запального процесу в пародонті.

Ключові слова: генералізований пародонтит, регенерація, тромбоцитарні фактори росту, аутоплазма, гіалуронова кислота, амніотична мембрана.

ABSTRACT

Vyshnevskaya H.O. Pathogenetic substantiation of regenerative therapy in the complex treatment of persons with chronic generalized periodontitis (Experimental and clinical research). – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences in specialty 14.01.22 "Stomatology" (221 – Stomatology). – State institution "Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery, NAMS of Ukraine", Odessa, 2021.

The dissertation is devoted to the experimental and clinical substantiation of a new concept for the treatment of chronic generalized periodontitis (CGP) of the II-III degree of severity through the use of regenerative techniques.

To achieve the goal and objectives of the study, a complex of clinical and experimental researches was carried out.

Five series of experimental studies were carried out, in which 298 white rats of herd breeding were used.

The first experiment was carried out to assess the effect of injection of platelet autoplasm on metabolic changes in parodontal tissues and in the body as a whole on the "Peroxide model" of parodontitis.

The purpose of the second experiment was to assess the regenerative capabilities of conservative plasmogel and hyaluronic acid techniques on biochemical and morphological changes in the parodontal complex on the "Ligature model" of periodontitis.

To assess the surgical regenerative techniques, three defect models were reproduced: a defect model of the mucous membrane of the alveolar process; alveolar bone defect model; mucogingival defect model.

Biochemical studies were carried out in the supernatant of homogenates of gum tissue, alveolar bone and blood serum of experimental animals.

The activities of elastase, catalase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and the content of malondialdehyde (MDH), the total proteolytic activity and content of trypsin inhibitor in the serum of rats were determined.

Biochemical parameters of rat mandibular bone homogenates included analysis of the activity of alkaline phosphatase, acid phosphatase, calcium and phosphorus content.

Biochemical parameters of rat gums included analysis of total proteolytic activity (TPA), trypsin inhibitor, elastase activity, catalase, hyaluronic acid (HA) and MDH content.

Morphometric studies included determination of the degree of atrophy of the alveolar process of the jaws.

The object of morphological studies in the evaluation of regenerative surgical techniques were pieces of tissue of normal and decellularized amniotic membrane (DAM) of a person, mucous membrane of the alveolar process with an artificially created defect, bone tissue of the lower jaw with an artificially created defect, as well as bone tissue with a bone defect covered with DAM, DAM + platelet-rich plasma (PRP), DAM + PRP + hyaluronic acid (HA). When evaluating conservative regenerative techniques, biopsies of the gums and jawbone were taken and fixed in 10 % neutral formalin. Then the standard processing of the tissue for embedding in paraffin was carried out, sections were prepared, they were stained according to Mallory and according to Masson with hematoxylin and eosin, examined under a microscope with a magnification of x10 eyepiece, x10 objective, x100, x200 and x400 magnifications. Quantitative assessment of newly formed vessels was carried out by the method of transillumination.

A total of 260 patients with CGP took part in the clinical examination, of which 147 patients were selected to participate in the study of the effectiveness of treatment with conservative and surgical regenerative techniques.

Clinical examination of patients included the identification of complaints, collection of anamnesis of life. For an objective assessment of the periodontal status, a periodontal map was used, which was filled out using the Florida Probe program (USA). The state of the periodontal tissues was assessed using an electron probe device of the Florida Probe software and hardware complex. After that, the following indices were calculated: O'Leary's plaque index (PL), bleeding on probing

(BOP Index), probing depth (PD), recession depth, clinical attachment loss (CAL), tooth mobility (TM), condition of the bone tissue in the furcation area.

Diagnostics of microhemodynamic changes in periodontal tissues was carried out by Doppler ultrasound method.

Biochemical methods were used to determine the activity of lysozyme, urease, catalase, TPA, the content of hyaluronic acid and MDH in the oral fluid of patients. Based on the results of determining the relative activities of urease and lysozyme, the degree of oral dysbiosis was calculated. The ratio of catalase activity and MDH concentration was used to calculate the antioxidant-prooxidant index (API), the activity of alkaline (ALP) and acid (AP) phosphatases.

In addition to basic therapy (removal of dental plaque, smoothing of root surfaces with antiseptic treatment of the oral cavity with 0.12 % chlorhexidine digluconate solution; biofilm and mineralized dental plaque were removed with a sonic instrument, a hendiblaster, using a powder based on glycine, root surfaces were smoothed using zone-specific Gracie curettes), the complex treatment of patients included prescriptions of conservative regenerative therapy. Protocols for the administration of autoplasmic preparations: AMK - 3 procedures, which were carried out with an interval of 7 days; PRP - 3 procedures, injection interval - 7 days; PPP - 5 procedures, injection interval 7 days; i-PRF- 5 procedures, administration interval 7 days. Conservative techniques of the combination of plasmogel from platelet autoplasmic - 3 procedures with an interval of every 7 days and a single instillation of the HA preparation, as well as a plasmogel with an interval of every 7 days, a single injection of the HA preparation and every 6 months in the form of supportive therapy, injection of i-PRF for 5 procedures with an interval of every 7 days.

Surgical intervention in patients of both groups was performed using the method of directed bone tissue regeneration. In the main group, the surfaces of exposed roots were treated with "PrefGel", after which the periodontal defect was washed with saline, bone defects were filled with osteoplastic material mixed with hyaluronic acid, a collagen membrane was placed over the periodontal defect, treated from both surfaces with plasma with a high content of platelet-derived growth factors

(PRP) and hyaluronic acid preparation. PRP and hyaluronic acid preparation were not used in the comparison group.

The effectiveness of the proposed regenerative techniques was assessed after 1, 6, 12 and 24 months.

The results of clinical studies showed the progression of the deepening of periodontal pockets of 5.19 ± 0.22 mm 2 years after treatment in the comparison group, while the indicator before treatment was 4.87 ± 0.18 mm.

The indicators of the hygiene index and the bleeding index suffered a significant decrease in all groups of patients by 29.95 % and 2.9 times, respectively.

After the treatment, it is clearly seen that an improvement in blood flow occurred, both in the main group (after 1 year - 1.217 ± 0.035 cm / sec., after 2 years - 1.297 ± 0.061 cm / sec.), and in the comparison group (after 1 year - 0.729 ± 0.031 cm / sec., after 2 years - 0.632 ± 0.025 cm / sec.). After 2 years, it can be noted that the indicator in the comparison group gradually begins to decrease, while in the main group it remains at a high level.

On the basis of experimental and clinical studies, it can be concluded that for a long-term effect of treatment of generalized periodontitis and regeneration of a complex of periodontal tissues when using conservative regenerative techniques, the most likely effect was shown by a complex of plasmogel preparations, hyaluronic acid and injection of i-PRF, for supportive therapy.

In surgical methods of treatment, the amniotic membrane was used in the experimental part, and in the clinic, collagen membranes, in which the inner layer was treated with growth factors in order to activate the formation of connective tissue cells. The collagen membrane activates osteoblasts and stimulates bone growth to a greater extent. The collagen membrane in combination with growth factors and hyaluronic acid led to a reduction in bone regeneration of the alveolar bone, which is confirmed not only clinically, but also morphologically.

In experimental conditions, it was proved that the injection of platelet autoplasm in the second observation period in rats leads to a significant decrease in the MDH level by 1.2 times in the gums and 1.4 times in the blood serum. At the

same time, the activity of catalase in the gums of rats increases by 1.3 times and in the blood serum by 1.6 times, which indicates the normalization of processes in the system of lipid peroxidation - antioxidant system. And also a significant increase in ALP activity by 2 times in the jawbone in both periods of observation ($p < 0.001$), which indicates the activation of the bone remodeling process ($p < 0.001$).

The results of morphological studies of the injection of platelet autoplasm showed a biphasic effect on periodontal tissues. Immediately after the completion of the course of injections of platelet autoplasm, activation of metabolic and regenerative processes in the periodontium is noted, an active process of bone tissue remodeling is launched - an increase in osteoclasts of resorption of the "old" bone and the formation of "new" bone. In the long-term follow-up, a new epithelial attachment is formed, the structure of connective tissue is restored with a rich number of newly formed vessels, and bone resorption is stabilized.

In a study on the "Ligature" model of periodontitis, it was proved that the use of a complex of plasmogel and hyaluronic acid preparations has anti-inflammatory properties, as evidenced by a significant decrease in TPA, as in the I period in females 1.0 ± 0.08 nkat / l and in males 1.15 ± 0.09 nkat / l, and in the II period in females 0.78 ± 0.04 nkat / l and males 0.84 ± 0.07 nkat / l, which is almost equal to the norm.

The state of the antioxidant defense system is important for the processes of restoration of periodontal tissues, in particular, a decrease in the MDH content in the blood serum, in females in the first term by 36.4 %, in the second term by 75.2 %, in males in the first term by 50.0 %, in the second term by 74.2 % and an increase in catalase activity in females in the first term by 43.2 %, in the second term by 56.6 %, in males in the first term by 30.0 %, in the second term by 46.8 %. A decrease in the MDH content also occurred in gum homogenates in females in the first term by 41.8 %, in the second term by 49.4 %, in males in the first term by 38.7 %, in the second term 47.4 %. The catalase activity in the gum tissues increased in the first period in females by 36.3 %, in males by 30.5 %, in the second period in females by 80.0 %, and in males by 41.4 %.

The API index in gum homogenates during treatment with plasmogel and hyaluronic acid in the first period increased by 62.9 % in females and by 57.4 % in males. The increase in the second term in females occurred by 71.8 %, in males by 69.2 %.

In homogenates of the gums of the group of laboratory animals treated with plasmogel and hyaluronic acid, the HA content increased in the first period in females by 27.7 % and in males by 37.7 %, in the second period in females by 66.8 %, in males by 63.0 %.

When analyzing the dynamics of wound healing according to the formula of L.N. Popova, the following features were traced: in the group where healing occurred with DAM, the daily decrease in the area of the defect was 6.6 % on the 3rd day, 5.3 % on the 5th day, 4.8 % on the 7th day in the DAM + PRP group, the daily decrease in the area of the wound was 8.8 % on day 3, 6.6 % on day 5, 6.1 % on day 7 in the DAM + PRP + HA group, the daily decrease in wound area was 8.8 % on day 3, 8 % on day 5, 6.6 % on day 7, which shows that from 3 to 5 days the rate of decrease in the wound area is lower, this indicates the phase of inflammation. Then, during the transition to the II phase of the wound process of the regeneration phase (5-7 days), the wound area rapidly decreased and complete epithelialization of the surgical wound was observed in all groups up to 14 days. A different picture was observed in the control group: in the period from the 3rd to the 5th day, there was a decrease in the daily reduction in the wound area in places of less than 4 %, which indicates a sluggish or prolonged course of the wound process with changes in the periods of exacerbation and fading of the growth of granulations and delayed epithelization.

Analysis of the healing of the bone defect based on the results of morphological studies showed that the regeneration of the bone defect after 2 months took place in all three groups. However, on the 14th day in the first group, in contrast to the second, third and fourth groups, there were practically no vessels. In the third group, in contrast to the second, on the 7th day, the presence of inflammatory elements is noted, but at the same time, areas of the newly formed bone are already revealed, which indicates active regeneration of bone tissue. In the fourth group,

elements of inflammation are also present longer than in groups 1 and 2, but at an earlier time, the appearance of a newly formed bone and a greater number of vessels are noted. This makes it possible to recommend the use of additional biologically active materials, decellularized amniotic membrane, PRP growth factors and hyaluronic acid for the restoration of bone tissue in cases of parodontal defects.

On the 7th day, in contrast to animals of the control group, in animals with DAM, DAM + PRP, as well as DAM + PRP + HA, the mucogingival defect was not detected, and the newly formed epithelium did not differ in shape and color from the norm. Smoothing of the gingival epithelial layer was observed with slightly pronounced keratinization.

Experimental studies on various models of periodontal pathology using biochemical and morphological methods made it possible to substantiate the advisability of prescribing a combined technique for the use of autoplasm and hyaluronic acid preparations at the stage of conservative treatment, as well as a combined enhancement of the regenerative effect during surgical treatment when combining osteoplastic materials, collagen membrane, platelet growth factors and hyaluronic acid.

The obtained results allow us make a conclusion about the effectiveness of conservative and surgical regenerative therapy during treatment of patients with CGP of II-III grades, which helps to eliminate inflammation in the periodontal tissues, normalize the antioxidant processes of the oral cavity and the enzymatic activity of the oral fluid, improve microcirculation, reduce the progression of bone resorption, which leads to long-term stabilization of the dystrophic-inflammatory process in the periodontium.

Key words: generalized periodontitis, regeneration, platelet growth factor, autoplasm, hyaluronic acid, amniotic membrane.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Вишневская А.А. Влияние тромбоцитарной аутоплазмы на процесс регенерации тканей пародонта при экспериментальном пародонтите у крыс / А.А. Вишневская // East European Science Journal. – 2018. - №5. – С. 22-24.
2. Вишневская А.А. Экспериментальное обоснование применения плазмогеля и гиалуроновой кислоты для лечения генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская // Інновації в стоматології. – 2019. – № 2. – С. 54-59.
3. Вишневская А.А. Антиоксидантно-прооксидантное соотношение в сыворотке крови при лечении генерализованного пародонтита плазмогелем и гиалуроновой кислотой в эксперименте / Вишневская А.А. // Colloguium-journal. – 2020. - №19. – С. 20-22.
4. Вишневская А.А. Ремоделирование костной ткани челюстей после инъекционного введения аутоплазмы в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская // Colloguium-journal. – 2020. - №30. – С. 68-72.
5. Вишневская А.А. Динамика изменений биохимических маркеров воспаления при лечении генерализованного пародонтита с использованием плазмогеля и гиалуроновой кислоты в эксперименте / А.А. Вишневская // Colloguium-journal. – 2020. - №31. – С. 65-71.
6. Vyshnevskia Hanna. Analysis of oxidative stress markers in the treatment of generalized parodontitis with plasmogel and hyaluronic acid in experiment / Hanna Vyshnevskia // Modern science. Moderni veda. – 2020. - №4. – С. 95-103.
7. Чумакова Ю.Г. Анализ клинических и биохимических показателей модифицированной модели лигатур-индуцированного пародонтита у крыс / Ю.Г. Чумакова, А.А. Вишневская, А.З. Какабадзе, Л.Г. Каралашвили, З.Ш. Какабадзе // Georgian Medical News. – 2014. - № 10 (235). – С. 63-69. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

8. Karalashvili L. Acellular human amniotic membrane as three-dimensional scaffold for the treatment of mucogingival defects / Karalashvili L., Kakabadze A., Vyshnevskia G., Kakabadze Z.// Georgian Medical News. – 2015. - № 7-8 (244-245). – С. 84-89. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

9. Вишневська Г.О. Морфологічна оцінка регенерації періодонтальної зв'язки при лікуванні генералізованого пародонтиту плазмогелем з тромбоцитарної аутоплазми / Г.О. Вишневська, С.А. Шнайдер, О.Е. Рейзвіх, Г.О. Бабеня, М.Т. Христова // Світ медицини та біології. – 2020. - №4. – С. 174-179. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

10. Вишневська Г.О. Оцінка впливу препаратів аутоплазми на активність еластази та вміст малонового діальдегіду в ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит / Г.О. Вишневська, С.А. Шнайдер, Л.М. Хромагіна // Вісник стоматології. – 2020. - №4. – С. 2-8. *Участь здобувача полягає у лікуванні хворих, заборі матеріалу для проведення лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

11. Вишневская А.А. Анализ клинической эффективности препаратов аутоплазмы в комплексном лечении генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - №35. – С. 34-37. *Участь здобувача полягає у лікуванні хворих, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

12. Вишневская А.А. Клиническая оценка методов регенеративной терапии в комплексном лечении генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - № 32. – С. 63-67. *Участь здобувача полягає у лікуванні хворих, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

13. Вишневская А.А. Реваскуляризация дефекта в области прикрепленной десны на слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс после закрытия матриксом с биологически активными материалами / А.А. Вишневская, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - №44. – С. 3-8. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

14. Вишневская А.А. Противовоспалительное действие плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и гиалуроновой кислоты при экспериментальном пародонтите у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - №45. – С. 15-19. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

15. Вишневская А.А. Рентгенологический анализ заживления костного дефекта альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс с использованием различных видов биологически активных матрикс / А.А. Вишневская, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. - №3. – С. 10-16. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

16. Вишневська Г.О. Відновлення кісткового пародонтального дефекту біологічно активним матриксом з гіалуроновою кислотою та тромбоцитарними факторами росту в експерименті / Г.О. Вишневська, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. - №2. – С. 10-16. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

17. Вишневская А.А. Метаболизм костной ткани в динамике при лечении генерализованного пародонтита плазмогелем и гиалуроновой кислотой в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-

journal. – 2020. - №21. – С. 19-23. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

18. Вишневская А.А. Локальная методика введения плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и гиалуроновой кислоты для лечения генерализованного пародонтита в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - №22. – С. 50-53. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

19. Vyshnevskia H.O. A comparative study on the effectiveness of application of different types of biological matrixes on mandibular alveolar mucosa lesion healing / H.O. Vyshnevskia, Z.Sh. Kakabadze, , S.A. Schnayder, L.M. Zayats, O.I. Tiron, R.S. Vastyanov // Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – № 10 (6). – P. 382-393. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

20. Vyshnevskia H.O. Development and study of perspective clinical properties of biologically active matrix composed of decellularized lyophilized human amniotic membrane in combination with platelet-derived growth factors and hyaluronic acid / H.O. Vyshnevskia, Z.Sh. Kakabadze, S.A. Schnayder, O.I. Tiron, O.F. Dzygal // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – № 9 (11). – P. 410-418. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

21. Karalashvili L. Bone grafts for reconstruction of bone defects (review) / L. Karalashvili, A. Kakabadze, M. Uhryn, H. Vyshnevskia, K. Ediberidze, Z. Kakabadze // Georgian Med News. – 2018. – № 282. – P. 44-49. *Участь здобувача полягає у проведенні інформаційних досліджень, написанні огляду літератури.*

22. Патент на корисну модель № 135219, Україна, МПК А61К 31/728 (2006.01). Спосіб естетичної корекції ясенного сосочка / Г.О. Вишневська, С.А. Шнайдер. – и 2019 00011; Заявл. 02.01.2019. Опубл. 25.06.2019. – Бюл. № 12.

23. Патент на корисну модель № 116957, України, МПК А61К 35/16, А61К 6/00. Спосіб лікування захворювань пародонту / Г.О. Вишневська. - и 2016 13306; Заявл. 26.12.2016. Опубл. 12.06.2017. – Бюл. № 11.

24. Вишневская А.А. Влияние обогащенной тромбоцитами плазмы крови на процесс ремоделирования костной ткани челюстей при экспериментальном пародонтите у крыс / Вишневская А.А. // Інновації в стоматології (Досягнення науки і практики в стоматології : наук.-практ. конф., м. Одеса, 23-24 жовтня 2014 р.: тези допов.). – 2014. - №3. – С. 149-150.

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	26
ВСТУП.....	28
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ ТЕОРІЇ ПАТОГЕНЕЗУ ТА ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).	38
1.1 Інтенсивність і поширеність захворювань пародонта.....	38
1.2 Сучасні аспекти етіології та патогенезу запально-дистрофічних захворювань тканин парадонту.....	39
1.3 Основні напрямки комплексної терапії патології пародонту.....	48
1.4 Основи регенеративної терапії хронічного генералізованого пародонтиту.....	50
1.5 Гіалуронова кислота: особливості будови і властивості.....	54
1.6 Анатомо-функціональні особливості амніотичної мембрани.....	56
1.7 Механізми терапевтичної дії амніотичної мембрани.....	60
1.8 Механізм дії збагаченої тромбоцитами аутоплазми.....	62
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	70
2.1 Дизайн дослідження.....	71
2.2 Експериментальні дослідження.....	75
2.2.1 Методи виготовлення регенеративних препаратів, що використовувались в експерименті.....	75
2.2.2 Серії експериментальних досліджень.....	78
2.3 Клінічні дослідження.....	89
2.4 Методи регенеративної терапії у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом.....	91
2.4.1 Консервативні регенеративні методики.....	91
2.4.2 Хірургічні методи регенеративної методики з використанням	

комбінації плазми збагаченої тромбоцитами та препарату гіалуронової кислоти.....	95
2.5 Рентгенологічні дослідження.....	97
2.5.1 Рентгенологічні методи дослідження в експерименті.....	97
2.5.2 Рентгенологічне обстеження пацієнтів.....	97
2.6 Функціональні методи дослідження.....	97
2.7 Біохімічні дослідження.....	100
2.7.1 Біохімічні дослідження ясен, сироватки крові та кісткової тканини нижньої щелепи щурів.....	100
2.7.2 Біохімічні дослідження ротової рідини.....	102
2.8 Морфометричні методи дослідження.....	103
2.9 Морфологічні методи дослідження.....	103
2.10 Метод кількісної оцінки новоутворених судин.....	105
2.11 Статистичні методи досліджень.....	105
РОЗДІЛ 3 СТАН ТКАНИН ПАРОДОНТА У ХВОРИХ З ГЕНЕРАЛІЗОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ II-III СТУПЕНЯ.....	107
3.1 Клінічна характеристика пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості.....	107
3.2 Результати рентгенологічного методу обстеження.....	111
3.3 Гемодинамічні зміни в тканинах пародонта у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості.....	112
РОЗДІЛ 4 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНИХ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ПРЕПАРАТІВ АУТОПЛАЗМИ ТА ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ.....	116
4.1 Вплив аутоплазми на тканини пародонта при ін'єкційному введенні в умовах моделювання пародонтиту у щурів.....	116
4.2 Вплив плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти на тканини пародонта в умовах моделювання пародонтиту у щурів	124

4.3 Визначення стану кісткового метаболізму при лікуванні експериментального пародонтиту плазмогелем та гіалуроновою кислотою.....	148
РОЗДІЛ 5 МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПАРОДОНТАЛЬНОМУ КОМПЛЕКСІ ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КОНСЕРВАТИВНИХ ТА ХІРУРГІЧНИХ РЕГЕНЕРАТИВНИХ МЕТОДИК.....	
5.1 Методика створення децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани людини і ДАМ + PRP + ГК.....	156
5.2 Морфологічні дослідження лікування «перекисного» пародонтиту у щурів з використанням ін'єкційної тромбоцитарної аутоплазми	161
5.3 Ефективність лікування дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК.....	167
5.4 Інтенсивність регенерації дефекту кістки альвеолярного відростка нижньої щелепи з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК.....	179
5.5 Оцінка регенерації кісткової тканини на підставі морфологічних досліджень.....	186
5.6 Результати відновлення мукогінгівального дефекту фронтальної ділянки верхньої та нижньої щелеп з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК.....	196
5.7 Ефективність лікування дефекту пародонтальних тканин методом застосування плазмогеля з тромбоцитарною аутоплазмою і геля з високим вмістом гіалуронової кислоти.....	206
РОЗДІЛ 6 КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КОНСЕРВАТИВНИХ ТА ХІРУРГІЧНИХ РЕГЕНЕРАТИВНИХ МЕТОДИК.....	
6.1 Клінічна оцінка ефективності лікування консервативними регенеративними методиками.....	228

6.2 Клінічна оцінка ефективності лікування хірургічними регенеративними методиками.....	236
6.3 Динаміка показників мікроциркуляції в тканинах пародонта після лікування комбінованою методикою препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти за даними ультразвукової доплерографії.....	239
6.4 Оцінка лікування консервативними регенеративними методиками за біохімічними показниками в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом.....	253
6.4.1 Визначення динаміки запалення при лікуванні генералізованого пародонтиту препаратами аутоплазми та гіалуронової кислоти.....	278
6.5 Оцінка лікування хірургічними регенеративними методиками за біохімічними показниками в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом.....	288
6.5.1 Вміст лужної та кислої фосфатаз в ротовій рідині у хворих на генералізований пародонтит після лікування.....	298
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	329
ВИСНОВКИ.....	349
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	352
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	354
ДОДАТОК А.....	392

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГП	- генералізований пародонтит
ПОЛ	- перекисне окислення ліпідів
АОС	- антиоксидантна система
МДА	- малоновий діальдигід
ЗР	- запальна реакція
ХГП	- хронічний генералізований пародонти
ГК	- гіалуронова кислота
АМ	- амніотична мембрана
PRP	- тромбоцитарний фактор росту
I-PRP	- ін'єкційна форма тромбоцитарної аутоплазми
i-PRF	- ін'єкційна форма фібрину, збагаченого тромбоцитами
SDS	- sodium dodecyl sulfate
ДАМ	- децелюляризована амніотична мембрана
ГЗ	- глибина зондування
CAL	- індекс втрати ясеневого прикріплення
РЗ	- рухливість зубів
PL	- індекс зубного нальоту
BOP	- індекс кровоточивості при зондуванні
АМК	- аутомезокріолізат
PPP	- плазма з низьким вмістом тромбоцитів
УЗДГ	- ультразвукова доплерографія
УЗ	- ультразвук
PI	- індекс пульсації
RI	- індекс опору
АлАТ	- амінотрансфераза
АСТ	- аспартат-амінотрансфераза
ЗПА	- загальна протеолітична активність
ІТ	- інгібітор трипсину

ЛФ	- лужна фосфатаза
КФ	- кисла фосфатаза
АПІ	- антиоксидантно-прооксидантний індекс
АОЗ	- антиоксидантний захист
АО	- антиоксидант
ДАМ + PRP	- децелюляризована амніотична мембрана з тромбоцитарними факторами росту
ДАМ + PRP + ГК	- децелюляризована амніотична мембрана з тромбоцитарними факторами росту та гіалуроновою кислотою

ВСТУП

Актуальність теми. Проблема високої поширеності та необхідність в лікуванні захворювань пародонта є однією з пріоритетних для сучасної стоматологічної практики. Дані ВООЗ свідчать, що від 80 до 100 % населення різних вікових груп мають ту чи іншу форму патології пародонту, яка призводить до значних змін зубощелепної системи, несприятливо позначається на травному процесі, сприяє зниженню резистентності організму, негативно впливає на психоемоційну сферу хворого, а значить, погіршує якість його життя, що визначає соціальну значимість проблеми (Петрушанко Т.О., 2018; Bissong M. et al., 2015; Beck J.D. et al., 2019).

Посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) грають визначальну роль в патогенезі багатьох хвороб людини, в тому числі при запальних ураженнях тканин пародонта. У нормальних умовах процеси окиснення і відновлення збалансовані, але в разі виснаження депо антиоксидантів, нераціонального харчування та інших негативних факторів виникає окислювальний стрес, для якого характерним є порушення прооксидантного та антиоксидантного балансу з переважанням першого і розвитком оксидативних порушень (Downey M.C., 2016; Wang Yue et al., 2017; Carneiro Szczepanik et al., 2020).

У стоматологічній практиці у складі комплексної терапії запальних процесів застосовуються антибактеріальні, нестероїдні протизапальні препарати й імуномодулюючі засоби, однак, застосування цих препаратів на тлі порушеної імунобіологічної реактивності організму найчастіше сприяє переходу гострих запальних процесів в підгострі і хронічні, ускладнює процеси відновлення (Muñoz-Carrillo J. Luis et al., 2019).

Дані про участь ПОЛ в патогенезі запальних захворювань пародонту вказують на доцільність використання антиоксидантів (АО) нарівні з деякими іншими біорегуляторами в комплексній терапії цих хвороб, тому в останні роки

все ширше використовують АО для стабілізації клітинних мембран і поліпшення репаративних процесів.

Все більше приділяється уваги методам лікування, стимулюючим власні ресурси організму, що володіють високим ступенем безпеки і біологічною активністю. В даному контексті дуже важливою ланкою в лікуванні захворювань пародонту можуть бути способи локальної стимуляції процесів регенерації тканин пародонту. Методом вибору може стати застосування методик тромбоцитарної аутоплазми, яка є високоактивним біологічним стимулятором процесів регенерації, за рахунок вмісту в альфа-гранулах тромбоцитів різних факторів росту. Крім того, застосування аутологічної плазми виключає можливість інфікування та алергічних реакцій (Гуляева О. с соавт., 2016; Aruna G., 2016).

Особливий інтерес вчених викликає гіалуронова кислота, яка позитивно впливає на метаболізм тканин. Препарат стимулює синтез колагену і протеогліканів, регенерацію сполучної тканини, знижує судинноруйнівну та мембрано протекторну дію (Білоклицька Г.Ф., 2015; Орехова Л.Ю., 2018). Інакше кажучи, ця речовина являє собою своєрідний «каталізатор» регенерації. Є дані про те, що гіалуронова кислота, володіє протизапальною та анти-дегенеративною діями, стимулює активність антиоксидантних ферментів (Al-Khateeb R., 2020).

У зв'язку з цим науковий пошук нових методів, засобів і їх комбінацій, що підвищують ефективність терапевтичного впливу на патологічний чинник запалення в пародонті, що поєднують в собі максимальну безпеку, високу біологічну активність по відношенню до тканин організму, залишається актуальним напрямком сучасної стоматології.

Зв'язок дисертаційної роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана в рамках науково-дослідних робіт ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України» (ДУ «ІСЩЛХ НАМН»):

- «Дослідити ефективність пептидних біорегуляторів і тромбоцитарних факторів росту при лікуванні захворювань пародонту» (Шифр НАМН 094.14: ДР № 0114U000381), дисертант була відповідальним виконавцем НДР;

- «Корекція патогенетичних механізмів порушень метаболізму в тканинах ротової порожнини у пацієнтів в залежності від екологічних та аліментарних факторів, що впливають на вуглеводний та ліпідний обмін» (Шифр НАМН 103.19, ДР № 0118U006996), дисертант була виконавцем окремих фрагментів НДР.

Мета дослідження: експериментально-клінічне обґрунтування нової концепції комплексного лікування осіб з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості з використанням регенеративних методик.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз особливостей пародонтологічного статусу пацієнтів з важкими формами генералізованого пародонтиту, хронічного перебігу за зверненням.

2. Вивчити показники мікроциркуляції пародонту у пацієнтів з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості.

3. Вивчити ефективність застосування регенеративних консервативних та хірургічних методик на експериментальних моделях пародонтиту.

4. Провести морфологічні дослідження змін пародонтального комплексу на «перекисній» моделі пародонтиту до та після використання ін'єкційної тромбоцитарної аутоплазми.

5. Провести морфологічні дослідження змін в тканинах пародонту щурів на експериментальній лігатурній моделі при застосуванні плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти.

6. Оцінити регенеративні можливості слизової оболонки ясеневого краю та альвеолярного відростку на підставі морфологічних досліджень.

7. Провести клінічну оцінку ефективності лікування генералізованого пародонтиту консервативними та хірургічними регенеративними методиками.

8. Вивчити ефективність лікування пацієнтів з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості на основі біохімічних показників ротової рідини при застосуванні консервативних та хірургічних регенеративних методик.

Об'єкт дослідження – генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості.

Предмет дослідження – експериментальне обґрунтування та оцінка ефективності лікування хворих з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості із застосуванням консервативних та хірургічних регенеративних методик.

Методи дослідження: експериментальні – для оцінки стану пародонтального комплексу та ефективності застосування регенеративних методик на різних моделях пародонтиту; клінічні – для оцінки пародонтологічного статусу у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості при застосуванні консервативних та хірургічних регенеративних методик; біохімічні – для визначення ферментативної активності біоптатів ясен, кістки щелеп, сироватки крові експериментальних тварин та ротової рідини пацієнтів; морфологічні – для оцінки процесу регенерації тканин пародонтального комплексу; функціональні – для оцінки стану мікроциркуляторного русла та судин пародонта; статистичні – для об'єктивізації отриманих даних.

Наукова новизна отриманих результатів. На основі багатопланових експериментальних і клініко-лабораторних досліджень запропонована та обґрунтована концепція лікування хворих з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості шляхом підвищення регенеративних можливостей тканин пародонту за допомогою плазмотерапії та гіалуронової кислоти.

Встановлено, що у обстежених пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом глибина пародонтальних кишень більше 5 мм відмічалась у 22,9 %, а розподіл глибини рецесії становив: 1 мм – 46,5 %, 2 мм – 32,0 %, 3 мм – 14,2 % та вище 4 мм – 7,2 %.

Проведені клінічні дослідження показали, що у хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу II-III ступеню важкості відмічається зниження як лінійних показників кровотоку, так і об'ємних швидкостей кровотоку в мікросудинах пародонту.

Вперше на експериментальних моделях пародонтиту науково обґрунтовано застосування різних форм аутоплазми (ін'єкційної та плазмогелю), про що свідчить вірогідне зниження вмісту малонового діальдегіду та збільшення активності каталази в яснах та в сироватці крові щурів.

Встановлено, що комбіноване застосування плазмогелю та гіалуронової кислоти стимулює кістковий метаболізм, на що вказує підвищення кислої та лужної фосфатази у першому терміні лікування та зменшення активності кислої фосфатази на 50 %, лужної - на 44,25 % у другому терміні лікування.

В експерименті на «перекисній» та «лігатурній» моделях пародонтиту доведено, що використання препаратів, підвищуючих регенераторні можливості пародонту (ін'єкційні форми аутоплазми та плазмогель з гіалуроновою кислотою), призводять до зниження загальної протеолітичної активності, активності еластази, лужної фосфатази, підвищення інгібітору трипсину в сироватці крові, зниження ступеню атрофії альвеолярного відростка щелеп.

Уперше морфологічно встановлено, що «перекисна» модель пародонтиту призводить до деструкції епітелію і структури сполучної тканини, витонченню колагенових волокон і їх гомогенізації, в структурі кістки відзначається наявність лакун, заповнених клітинно-запальним інфільтратом, змінено структуру остеоїда.

На основі морфологічних досліджень встановлено, що використання ін'єкцій тромбоцитарної аутоплазми у тварин на «перекисній» моделі пародонтиту призводить до активного процесу репаративної регенерації сполучної тканини, активного процесу ремоделювання кісткової тканини, а через три тижні до повної регенерації тканин пародонту, відновленню структури сполученої тканини.

Встановлено, що загоєння дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка в контрольній групі проходило повільніше, характеризувалося низькою проліферативною активністю епітелію та сполучної тканини, малою кількістю судин в грануляційній тканині, більш пізніми термінами її дозрівання в порівнянні з тваринами, у яких для відновлення дефекту м'яких тканин використовували децелюляризовану ліофілізовану амніотичну мембрану (ДАМ), децелюляризовану ліофілізовану амніотичну мембрану з плазмою, збагаченою тромбоцитарним факторами росту (ДАМ + PRP), децелюляризовану ліофілізовану амніотичну мембрану з плазмою, збагаченою тромбоцитарними факторами росту і гіалуроновою кислотою (ДАМ + PRP + ГК).

На основі морфологічних досліджень встановлено, що загоєння дефекту кістки альвеолярного відростку в групі з ДАМ + PRP відбувалося швидше на 12,2 %, а в групі з комбінуванням ДАМ + PRP + ГК швидше на 43,1 % у порівнянні з загоєнням в групі з використанням тільки ДАМ.

Лікування хворих з хронічним генералізованим пародонтитом консервативними та хірургічними регенеративними методиками призводило до зменшення глибини пародонтальних кишень, зменшення глибини рецесії, зменшення втрати епітеліального прикріплення та рухливості зубів.

Доведено, що при застосуванні комплексу з плазмогелем, гіалуроновою кислотою та i-PRF у хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу II-III ступеня важкості в ротовій рідині відмічається збільшення активності гіалуронової кислоти, яка свідчить про збільшення бар'єрної функції ясен, зменшує запалення та попереджує рецесію м'яких тканин пародонту.

Встановлено достовірне збільшення активності лужної та кислої фосфатаз в ротовій рідині пацієнтів з генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості (на 75 % та 70 % відповідно). При проведенні регенеративного хірургічного лікування спостерігається зниження активності лужної фосфатази на 13,3 %, 46,6 % та 38,4 % через 6 місяців, 1 та 2 роки відповідно по відношенню до групи порівняння, кислої фосфатази – на 50,0 %, 58,4 %, 55,1 % відповідно у порівнянні з вихідними показниками.

На основі клінічних досліджень доведено, що застосування хірургічних методик регенеративного лікування генералізованого пародонтиту II-III ступеня важкості призводить до зменшення глибини рецесії та відновлення епітеліального прикріплення (в основній групі на 18,9 %, в групі порівняння на 8,1 %), зменшення ураження фуркацій (в основній групі на 37,8 %, в групі порівняння на 34,0 %), а також рухомості зубів (в основній групі на 56,98 %, в групі порівняння на 45,25 %).

Уперше теоретично обґрунтована, підтверджена в експериментальних та клінічних умовах доцільність застосування регенеративної терапії у комплексному лікуванні хворих з генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості хронічного перебігу.

На основі вивчення ефективності дії різних препаратів аутоплазми встановлено, що найбільш виражений терапевтичний ефект відмічається при застосуванні плазмогелю в комбінації з гіалуроновою кислотою та i-PRF для підтримуючої терапії кожних 6 місяців.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено та запропоновано патогенетично обґрунтовану методику підвищення регенеративних можливостей тканин пародонту при генералізованому пародонтиті, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості за допомогою плазмотерапії та гіалуронової кислоти, використання якої забезпечує тривалу стабілізацію дистрофічно-запального процесу в пародонті.

Розроблено способи консервативного лікування генералізованого пародонтиту з використанням регенеративних препаратів (патент № 116957 від 12.06.2017 р.; патент № 135219 від 25.06.2019 р.)

Запропоновано спосіб хірургічного лікування генералізованого пародонтиту, який передбачає застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, та гіалуронової кислоти у поєднанні з колагеновою мембраною.

За матеріалами дисертації надруковано методичні рекомендації «Алгоритми застосування плазмотерапії в стоматології» (Одеса, 2018).

Результати, що отримані під час виконання дисертації, використовуються в лікувальній роботі та в навчальному процесі на кафедрах стоматологічного профілю Одеського національного медичного університету, на кафедрі терапевтичної стоматології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, на кафедрі хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Харківського національного медичного університету, в стоматологічній поліклініці №1 (Одеса), в стоматологічній клініці «Зубна майстерня» (Харків), в стоматологічній клініці «Granddent» (Одеса), в стоматологічній клініці «Geneva» (Одеса), в стоматологічній клініці Сімейна стоматологія «Ваш Зубний» (Одеса), в стоматологічній клініці «Доктор Смайл» (Одеса).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним дослідженням автора, виконаним на базі консультативно-поліклінічного відділення ДУ «ІСЦЛХ НАМН». Автор самостійно здійснив патентно-інформаційний пошук, вивчив і проаналізував вітчизняну та зарубіжну літературу з даної проблеми, сформулював мету і завдання дослідження, а також у повному обсязі здійснив аналіз клінічних, рентгенологічних, функціональних, лабораторних, експериментальних досліджень та результатів лікування пацієнтів з генералізованим пародонтитом (ГП) хронічного перебігу, II-III ступеня важкості.

Морфологічні та електронно-мікроскопічні дослідження проведено автором разом із співробітниками кафедри клінічної анатомії Тбіліського

державного медичного університету (під керівництвом д.мед.н., проф. Какабадзе З.Ш.).

Біохімічні дослідження проведені на базі лабораторії біохімії ДУ «ІСЦЛХ НАМН» (зав. лаб. – д.біол.н. Макаренко О.А.).

Проведено статистичну обробку отриманих даних, аналіз результатів дослідження та їх узагальнення, сформульовано наукові висновки та розроблено практичні рекомендації. Співавторство інших дослідників у наукових роботах, надрукованих за матеріалами дисертації, полягало в консультативній допомозі, участі в діагностичному процесі, проведенні лабораторних досліджень.

Апробація результатів дисертації. Наукові результати і основні положення дисертаційної роботи доповідалися і обговорювалися на симпозіумі «Пародонтологія та імплантопротетика» (Київ, 2014); науково-практичній конференції «Досягнення науки і практики в стоматології» (Одеса, 2014); міжнародній науково-практичній конференції «Регенеративна медицина на основі аутологічної плазми» (Одеса, 2014); другій міжнародній українсько-польській конференції «М'якотканинні аспекти в естетичній стоматології. Профілактика ускладнень в пародонтологічному та імплантологічному лікуванні» (Львів, 2014); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Регенеративна пародонтологія:сучасність і майбутнє» (Київ, 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Клітинна терапія і тканинна біоінженерія в стоматології» (Одеса, 2015); конференції «Сучасні технології в профілактиці та лікуванні карієсу та захворювань тканин пародонту» (Кривий ріг, 2016); міжнародній конференції «Регенеративні технології в сучасній медицині» (Київ, 2017); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи розвитку сучасної стоматології» (Одеса, 2018); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Пародонтологія вчора, сьогодні, завтра» (Львів, 2018); конференції «Концептуальна пародонтологія VII» (Полтава, 2018); European Congress

«EuroPerio9» (Amsterdam, Holland, 2018); конгресі «Medical Aesthetic Synergy Congress» (Київ, 2019).

Публікації. Матеріали дисертації опубліковані в 23 наукових працях, з них 5 статей у наукових фахових виданнях України (в тому числі 1 стаття у журналі, включеному до наукометричної бази Web of Science), 15 статей у наукових фахових виданнях інших країн (в тому числі 2 статті у журналі, включеному до наукометричної бази Scopus), 2 патенти України на корисну модель, 1 огляд літератури (у журналі, включеному до наукометричної бази Scopus), 1 тези у матеріалах конференції.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 396 сторінках комп'ютерного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, 4-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури (338 джерел, з яких 221 написано латиницею) і додатку. Робота ілюстрована 173 рисунками, містить 38 таблиць.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ТЕОРІЇ ПАТОГЕНЕЗУ ТА ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ

(огляд літератури)

1.1 Інтенсивність і поширеність захворювань пародонта

В структурі стоматологічних захворювань хвороби пародонта займають одне із перших місць і по соціально-економічній значущості відносяться до найбільш актуальних проблем стоматології. Це пов'язано з масовою поширеністю захворювань пародонту у населення, їх прогресуючим перебігом, негативним впливом на організм в цілому і наслідками, що приводять до передчасної втрати зубів і порушення функції зубощелепної системи [1-4].

Генералізований пародонтит (ГП) є найпоширенішим і важким серед захворювань пародонту і являє собою своєрідний дистрофічно-запальний процес, що виникає в тканинах пародонта внаслідок поєднаного впливу різних загальних і місцевих екзогенних та ендогенних факторів. При цьому відбувається каскад нейро-регуляторних, нейро-трофічних, біохімічних, імунологічних і функціональних порушень, мікроциркуляторних і метаболічних розладів, розвиваються порушення практично всіх видів обміну речовин: білкового, ліпідного, вуглеводного, мінерального, що в підсумку викликає незворотну деструкцію пародонтальної зв'язки і альвеолярної кістки [5-7].

Епідеміологічні дослідження в різних країнах свідчать про те, що поширеність захворювань пародонту коливається в широких межах [8-10]. Це пояснюється клімато-географічними особливостями регіонів, соціальними факторами і рівнем медичного обслуговування населення, доступністю до методів масової профілактики, різноманітністю методичних підходів, відсутністю єдиної термінології, тестів клінічної оцінки і глибокого аналізу з урахуванням загального стану організму [11].

1.2 Сучасні аспекти етіології та патогенезу запально-дистрофічних захворювань тканин пародонту

Різнопланова багатогранна дія місцевих і загальних етіопатогенетичних факторів обумовлює різні клінічні прояви та перебіг захворювання, що вимагає диференційованого підходу до вибору засобів і методів лікування в залежності від ступеня розвитку ГП, віку, статі, наявності супутньої патології, умов проживання і харчування та ін. [12-14].

Пародонтит викликають бактерії зубної бляшки. На думку McGregor et al. (2015 року), необхідно розрізняти дві форми пародонтиту, не пов'язані з іншими захворюваннями – хронічний і агресивний пародонтит, яким присвячено більшість досліджень по вивченню патогенезу. Третя форма пародонтиту виникає на тлі системних захворювань, найчастіше генетичних або гематологічних, наприклад лейкозу або нейтропенії, значно знижують стійкість до бактеріальних інфекцій [15-18].

Хронічний пародонтит – найчастіша форма запально-дистрофічного захворювання тканин пародонту. Найчастіше ним хворіють дорослі, хоча він може виникати і у дітей. Характерною діагностичною ознакою цієї форми є відповідність тяжкості захворювання і вираженості місцевих факторів, пов'язаних з утворенням бляшок або зубного каменю на поверхні зуба або коренів. Для нього також характерно помірно прогресуючий перебіг з короткими періодами прискорення. На швидкість і тяжкість процесу можуть впливати системні чинники, наприклад цукровий діабет або куріння [19-21]. Таким чином, висока поширеність захворювань пародонту диктує необхідність пошуку оптимальних засобів і методів профілактики і лікування з урахуванням патогенетичних механізмів розвитку.

Пародонтит, представляє серйозну медико-соціальну проблему. Її важливість визначається рядом обставин. Поширеність цієї патології серед дорослих залишається на високому рівні і не має тенденції до зниження [22,23].

Клінічна картина хронічного генералізованного пародонтиту на ранніх стадіях захворювання характеризується маломаніфестним і латентним перебігом, що ускладнює своєчасну діагностику і віддаляє початок адекватних лікувальних і реабілітаційних заходів [24-26].

Вірулентність збудників хвороб пародонту обумовлена комплексом чинників. Найбільш важливими видаються такі патогенні властивості [27,28].

Колонізація. У ясенній борозні бактерії прикріплюються до епітеліальних клітин і інших бактерій під'ясеневої зубної бляшки. Подальше поширення бактерій або їх потомства може супроводжуватися адгезією до тканин за межами ясенної борозни [29-32].

Спірохети під впливом хемотаксиса можуть досягати ясенної борозни завдяки рухливості – функції їх осьових ниток [33]. Інвазія. *P. gingivalis* і *A. actinomycetemcomitans* можуть ініціювати власне захоплення ясеневими епітеліальними клітинами (що не відносяться до фагоцитуючих клітин). Інтерналізувати бактерії захищені від імунної системи і можуть впливати на її ефекторні механізми, наприклад вироблення цитокінів. Спірохети і інші мікроби проникають в тканини ясен, викликаючи їх запалення і пошкодження [34]. Токсини. *A. actinomycetemcomitans* виробляють сильний лейкотоксин, що вбиває нейтрофіли і моноцити людини (за рахунок споруутворення і індукції апоптозу). Бактерії можуть «пакувати» лейкотоксин в мембранні пухирці, легко проникають в тканини [35-38].

Ферменти і токсичні метаболіти. Для отримання поживних речовин (пептидів) *P. gingivalis* утворює ряд протеолітичних ферментів. Ці протеази руйнують також ефекторні молекули імунітету, структурні компоненти тканин і залізо або гемінвміщуючі молекули.

Утворені бактеріями жирні кислоти можуть пригнічувати поділ клітин і хемотаксис нейтрофілів. Клітинні компоненти. Капсула та інші зовнішні структури бактерій можуть перешкоджати фагоцитозу, стимулюючи продукцію цитокінів та медіаторів запалення, зокрема ІЛ-1. Подібна взаємодія веде також

до синтезу і секреції простаноїдів, особливо простагландину E2. В цілому це сприяє деструкції колагену і кісткової тканини [39-43].

Стійкість до знищення нейтрофілами. Одні мікроорганізми можуть запобігати злиттю фагосоми з лізосомами, інші виявляють стійкість до токсичних компонентів нейтрофілів [44].

Фактори імуносупресії. *A. actinomycetemcomitans* утворює токсин летального набухання клітини, який пригнічує найважливіші функції лімфоїдних клітин, наприклад розподіл, а також утворення антитіл і цитокінів [45,46].

Фактори макроорганізму. За характером патологічних змін і появи різних імуноцитів ураження пародонту можна розділити на 4 стадії.

Початкова стадія гістологічно відповідає гострому запаленню і характеризується змінами судин, зовнішнього вигляду епітеліальних клітин, руйнуванням колагену і нейтрофільної інфільтрації тканин. Для раннього ураження характерна поява лімфоїдної інфільтрації з переважанням Т-лімфоцитів, посилення втрати колагену і міграція епітелію в апікальному напрямку. Ці зміни узгоджуються з уявленнями про опосередковану імунну відповідь. Поступове накопичення В-лімфоцитів веде до переходу в стадію стійкого ураження, коли домінують В-лімфоцити, плазмоцити і мононуклеарні фагоцити, а епітелій інфільтрований великою кількістю нейтрофілів [47,48].

При пародонтиті в стадії глибокого ураження переважають плазматичні клітини [49]. Йде подальша втрата сполучнотканинних елементів і кістки (під впливом активності остеокластів).

Уздовж з'єднувального епітелію в ясенній борозні або ясенній кишені нейтрофіли створюють бар'єр, який вважається першою лінією захисту від мікробів зубної бляшки. Дійсно, дефіцити функції нейтрофілів клінічно проявляються раннім і важким пародонтитом. При менш виражених дефектах нейтрофілів також іноді відзначається рання і швидка деструкція тканини пародонту [50-56].

Однак функція нейтрофілів може бути не тільки захисною: при взаємодії нейтрофілів з бактеріями в тканинах пародонта можуть виділятися токсичні речовини здатні пошкоджувати клітинні компоненти пародонта [57].

У деструкції тканини можуть брати участь імунні комплекси [58]. Таким чином, згідно з сучасними уявленнями, бактеріальна агресія є одним із чинників, який ініціює виникнення захворювань пародонту, обумовлює розвиток різних форм запалення пародонтального комплексу в залежності від характеру та інтенсивності відповідної реакції організму [59,60].

Виникненню запальних змін в пародонті сприяють загальні захворювання організму, які знижують резистентність тканин пародонту щодо бактерій зубної бляшки [61-65]. Найважливішими з них є: цукровий діабет, лейкемія, гіпо- і авітамінози, виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки, дерматологічні хвороби, вірусні захворювання, сечокам'яна хвороба і патологія нирок, стрес, генетична схильність, куріння [66-85].

Загальною закономірністю при всіх типах запалення є як правило, посилення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що відбувається на тлі зниження активності фізіологічної антиоксидантної системи (АОС) організму [86-88]. Одна з головних причин активації ПОЛ при різних патологічних процесах – тканинна гіпоксія, що виникає внаслідок порушення здатності тканин поглинати кисень з крові або в зв'язку зі зменшенням ефективності ферментативного окиснення [89-91].

Утилізація кисню тканинами може обтяжуватися в результаті пригнічення біологічного окиснення різними інгібіторами, порушення синтезу ферментів або пошкодження структур клітини [92-96].

Цілий ряд причин викликає активацію ПОЛ в тканинах пародонта: зниження надходження в організм аліментарних антиоксидантів (АО), таких як: токоферол, аскорбат, біофлавоноїди [97,98]; стрес різного генезу (під впливом катехоламінів і кортикостероїдів в кров надходить надлишок жирних кислот і кисню); зовнішні хімічні прооксиданти (пестициди, лікарські окислювачі, алкоголь та ін.); фізичні фактори (підвищений радіоактивний фон,

ультрафіолетове опромінення, електромагнітне поле та ін.); надлишкове і несбалансоване вживання жирів і вуглеводів на тлі недостатнього їх витрачання; гіпокінезія з низьким рівнем біологічного окислення ферментів; вроджені ензимопатії антиоксидантних ферментів (каталази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази; зниження з віком активності антиоксидантних ферментів [99-106].

У роботах останніх років показано значення гемоендотеліального дисбалансу мікроциркуляторного русла в патогенезі захворювань пародонту [107-111].

Дезорганізація гомеостатичних механізмів мікроваскулярного ложа є причиною хронічної гіпоксії тканин пародонтального комплексу, в умовах якої активуються процеси ПОЛ біомолекул, які призводять до порушень структури і функції біомембран пародонта [112,113]. З багатьох ефектів, викликаних дією вільних радикалів на клітину, найбільш важливим є активація ПОЛ, що призводить до порушень тканинного дихання у внутрішній мембрані мітохондрій, процесів гідроксиліровання в мікросомах, виходу цитотоксичних продуктів з поліморфноядерних лейкоцитів [114-119].

У ряді досліджень встановлено, що пародонт в зв'язку з багатою васкуляризацією та іннервацією є об'єктом емоційно-больового стресу, який активує ПОЛ. Цей феномен супроводжується появою ознак деструкції: дилатації судин, резорбції кісткової тканини, проліферації грануляцій. Інсулінова недостатність потенціює вплив хронічного стресу. Як правило, при зазначених захворюваннях пародонтит зустрічається в переважній кількості випадків. Антиоксидантна недостатність, надмірне накопичення продуктів ПОЛ призводить до тривалого перебігу зазначених патологічних процесів [120-127].

У деяких дослідженнях наводяться дані, що при хронічному пародонтиті в тканинах пародонта знижується активність деяких типів антиоксидантних ферментів (каталази, цитохромоксидази, глутатіонпероксидази), причому встановлено, що активність каталази знаходиться в залежності від стадії

захворювання: хронічний, але не гострий, процес супроводжується, як правило, більш вираженим зниженням її активності [128].

У клінічних спостереженнях встановлено, що в тканинах ясен при пародонтиті збільшується кількість сульфгідрильних груп, що свідчить про наявність процесів розпаду тканинного білка і пов'язаних з цим порушень проникності мембран. Кореляційний зв'язок статистично достовірно встановлений між вмістом продуктів ПОЛ в одержаній ясенній рідині і визначається інструментально глибиною пародонтальних кишень [129].

У деяких дослідженнях встановлено значне збільшення швидкості утворення малонового діальдегіду (МДА) в гомогенатах ясен при запаленні. У пацієнтів, які страждають на пародонтит, вміст МДА в крові судин ясен порожнини рота зростає прямо пропорційно тяжкості захворювання [130].

Отже, теорію участі ПОЛ в патогенезі запальних захворювань пародонту має сенс сформулювати наступним чином. Вихідний фон захворювання обумовлює основні фактори ризику (відносну недостатність АОС), що призводить до розвитку гострої гіпоксії тканин пародонта, активації процесів перекисного окиснення ліпідів і дифузії продуктів з м'яких тканин в кісткову тканину, індукує деструкцію колагенових волокон і остеопороз щелепних кісток. Отже, без усунення вищеназваного фону терапія запалення пародонту ефективною бути не може, тому пошук нових засобів захисту тканин пародонта від патологічного впливу продуктів ПОЛ є досить актуальною проблемою.

Науково доведено, що запальні процеси в тканинах пародонта впливають на якість життя пацієнтів. Існує зв'язок запальних процесів в пародонті з іншими захворюваннями [131-134].

За останні роки гострий перебіг пародонтиту все частіше приймає затяжний перебіг, а кількість істинно хронічних запальних захворювань не скорочується [135-139].

У літературі описуються різні варіанти хронічного запалення, але якщо розглядати проблему в цілому, то ключові події запальних процесів пов'язані зі станом клітин-ефекторів і продуктів їх активності.

При цьому треба чітко уявляти, що існує різноманіття зв'язків і складно виділити з них найбільш значний. «Хронічні фактори системної альтерації, як правило, діють кооперативно. У деяких випадках можна виділити ключові тригери хронічного запалення». «При хронічному запаленні відбувається формування відносно компенсованої рівноваги між дією шкідливого чинника запальної реакції (ЗР) з одного боку і буферними системами протизапальної резистентності з іншого» [140-143].

Як при гострому, так і при хронічному запаленні ключовою ланкою патогенезу є ЗР, а її інтегральним показником - певні рівні реактивності. В обох випадках можна використовувати додаткові критерії запальної реакції, а також виявляти маркери стрес / дистрес реакції нейроендокринної системи, вторинного ушкодження та інших феноменів запалення. У той же час хронічне запалення, в порівнянні з гострим запаленням, має ряд відмінних ознак. Основними з них є наступні: вцілому компенсований характер перебігу процесу, менша вираженість змін показників (більш низькі пороги для прояву критеріїв). При хронічному запаленні організм відносно задовільно адаптується до зміненого стану гомеостазу.

Розвитку хронічного запалення протистоїть система факторів антизапальної резистентності, яка, по-перше, перешкоджає прогресуванню або обмежує посилення запальної реакції, по-друге, при наявності ЗР гальмує розвиток феномена вторинного пошкодження і особливо мікроциркуляторних розладів у життєво важливих органах і тканинах. Ці процеси реалізуються як на рівні загальних, так і місцевих позицій; в кінцевому підсумку можна знайти нові шляхи його попередження і лікування [144,145].

Роль мікробіоти в ініціації захворювань пародонту очевидна, проте вираженість запальної реакції в значній мірі визначається можливостями макроорганізму протистояти його мікробіоті. Велика роль в патогенезі запальних захворювань пародонту відводиться стану місцевих і загальних факторів, специфічної і неспецифічної резистентності [146,147].

В основі хронічного запалення лежить єдиний патологічний механізм – альтерація, що провокує активацію основних програм запального процесу, що дозволяють його реалізувати як у всьому організмі, так і окремими клітинами, тобто відбувається адаптація до факторів ушкодження і токсичності. При хронічному запаленні в тканинах пародонта характер і напрямок цих змін вивчені недостатньо.

Наявність мікробної біляшки на тканинах пародонта формує патологічну систему, з одного боку, а з іншого – по видимому, цьому передують інша система, яка сприяє тому, що механізми резистентності, ретельно відшліфовані в процесі філогенезу, раптом перестають виконувати свою основну функцію і формують патологічну систему, яка втрачає свої адаптивні властивості і призводить до виникнення нових функціональних зв'язків, що сприяють перманентному процесу, в якому більше немає місця фізіологічному стану тканин пародонта [148].

В результаті з часом первинний альтеруючий фактор перестає діяти «в поодиночку», тому усунення патогена не є достатнім лікувальним заходом, оскільки не забезпечує усунення виниклих функціональних зв'язків.

Відомо, що прозапальні цитокіни активують клітини епітелію, фібробласти, макрофаги, в результаті вони продукують медіатори запалення, ферменти, що призводять до дегенерації міжклітинного матриксу та резорбції кісткової тканини [149,150].

У патогенезі генералізованого пародонтиту суттєву роль відіграють системні процеси, зокрема, порушення мікроциркуляції, що призводять до глибоких змін внутрішнього середовища організму і, як наслідок, до структурного ураження тканин пародонта. Численні дослідження, проведені за останній час, показали, що зміни в судинах мікроциркуляторного русла при пародонтиті носять дуже різноманітний характер. При цьому автори зазначають, що в судинах можуть відбуватися як структурні, так і функціональні зміни: порушується їх проникність, зменшується кількість

функціонуючих капілярів, змінюються агрегаційні властивості крові, що призводять до зниження перфузії мікроциркуляторного русла кров'ю.

Ступінь порушень гемостазу залежить від тяжкості хронічного генералізованого пародонтиту: зі збільшенням тяжкості захворювання посилюються процеси активації та агрегації тромбоцитів, знижуються антиагрегаційна, антикоагулянтна і фібринолітична здатності ендотелію.

Залежно від тяжкості захворювання підвищується в'язкість крові і посилюється агрегація еритроцитів.

На тлі інтенсивного запального процесу розвивається явище стаза еритроцитів в судинах мікроциркуляторного русла, лимфостаза, посиленого діapedезу лейкоцитів, еритроцитів і вихід за межі судинних стінок значної кількості плазми, фібрину.

Крім того, медіатори запалення викликають порушення судинного кровотоку в венозній та артеріальній ланках системи мікроциркуляції: спостерігається венозний застій, уповільнення кровотоку, поява інтенсивного ціанотичного кольору слизової оболонки ясен, зміна кількості і форми функціонуючих венозних капілярів, які можна розглядати як функціональні ознаки порушення гемоциркуляції пародонта.

Велике значення має розвиток, на тлі хронічного запалення, перівазального склероза. При пародонтиті пухкі сполучнотканинні муфти, що оточують його судини, заміщуються ригідною грубоволокнистою сполучною тканиною, в результаті чого вони втрачають здатність до різкого збільшення ємності, що призводить до порушення гідравліки.

Специфіка функціонального стану мікросудин багато в чому визначається їх надзвичайно високою реактивністю до дії гуморальних факторів, багато з яких вивільняються прилеглими клітинами.

При захворюваннях пародонту в процес залучаються всі судини. Спостерігаються явища проліферації і набухання ендотелію, розшарування еластичних волокон, в результаті ендотелій судин стає проникним, виникає набряк ясен.

Рясний викид в тканинну середу протеолітичних ферментів, зокрема, еластази і колагенази, призводить до руйнування, лізису колагенових фібрил періодонтальної зв'язки. Проліферуючі ендотеліоцити і фібробласти, а також поліморфноядерні лейкоцити продукують металопротеїнази, що володіють високим деструктивним потенціалом.

При втраті прикріплення відбувається розчинення позаклітинного матриксу та колагена волокон періодонтальної зв'язки. Суттєвою ознакою є зміна активності резидентних фібробластів. Гомеостаз порушується, баланс між синтезом та резорбцією зміщується в сторону деструкції. Така стимуляція резорбції відбувається з деяких причин: при хронічному запаленні метаболіти бактерій викликають активацію макрофагів, які в свою чергу провокують фібробласти до секреції деструктивних медіаторів; при запаленні активацію поліморфно-ядерних лейкоцитів в сполучній тканині викликає високий вміст хемокинів після чого вивільняється великий об'єм літичних ферментів (кислі гідролази, еластази, нейтральні протеази і т.п.), які руйнують власні тканини організму. Пусковим фактором втрати альвеолярної кістки при пародонтиті є посилення продукування медіаторів запалення, ці фактори стимулюють активність остеобластів на пряму та діють через попередників остеобластів, збільшується пул клітин резорбуючих кісткову тканину, а також змінюється активність остеобластів. Можливо, що в період загострення хронічного процесу самі бактеріальні продукти безпосередньо викликають резорбцію кістки.

1.3 Основні напрямки комплексної терапії патології пародонту

Очевидно, що лікування ГП повинно бути комплексним, спрямованим на різні ланки патологічного процесу в тканинах пародонта та в організмі в цілому, і строго індивідуалізованим, з урахуванням превалювання дії тих чи інших місцевих і загальних пародонтопатогенних факторів у кожного конкретного хворого. У комплекс пародонтологічного лікування входять різні види стоматологічної допомоги: терапевтичне (загальне і місцеве), хірургічне,

ортодонтичне, ортопедичне, фізіотерапевтичне лікування, які мають етіотропну, симптоматичну і патогенетичну спрямованість [151, 152]. У всіх хворих на ГП незалежно від ступеня важкості і характеру перебігу захворювання на початковому етапі проводиться консервативне лікування, що включає професійну гігієну порожнини рота, антимікробну і протизапальну терапію, а далі за показаннями у кожного хворого визначається обсяг інших необхідних лікувально-реабілітаційних заходів.

З огляду на те, що загострення ХГП супроводжується зростанням патогенної мікрофлори, в терапії пародонтиту обов'язково використовують різні протимікробні засоби у вигляді полоскань і гелів: peridex, listerine, seracol, scope, perio aid, oral-B, teeth and gum care, colgate plax, Perio chip, Elyzol, метрогіл дента [153, 154].

Застосування антибактеріальних препаратів має певні недоліки. Тотальне придушення бактеріальної біоти порожнини рота створює передумови для виникнення дисбіозу, сприяє виникненню грибкової суперінфекції. Тому ця терапія обмежена за часом [155].

У світлі сучасної концепції патогенетичного лікування ГП результати його значною мірою залежать від розуміння біологічних особливостей регенерації тканин, можливості відновлення структурної біології всього ураженого пародонтального комплексу (епітеліального прикріплення, пародонтальної зв'язки, цементу кореня зуба, втраченої альвеолярної кістки), що є одним з найбільш складних завдань в пародонтології [156].

Ремоделювання тканин пародонта, яке відбувається при пародонтиті, спонукає дослідників розвивати методи, спрямовані на відновлення втрачених в процесі запалення опорних тканин зуба – періодонтальної зв'язки і кістки, для цього використовуються колаген який містять препарати, тканинні трансплантати, біополімери, цементи, препарати що стимулюють функцію остеоцитів [157].

Таким чином, в даний час більшість дослідників сходяться на думці, що пародонтит є поліетіологічним захворюванням, провідну роль в якому грають

мікробіологічні, імунологічні та запальні зміни на тлі генетичної схильності. Тому, за результатами багатьох дослідників, комплексна терапія пародонтиту краще монотерапії і повинна включати лікарські засоби, здатні впливати на всі ланки патогенезу [158].

1.4 Основи регенеративної терапії хронічного генералізованого пародонтиту

З метою посилення регенерації тканин пародонта протягом останніх десятиліть застосовують широкий діапазон терапевтичних і хірургічних методів лікування з використанням різних лікарських засобів і біосумісних остеоіндуктивних матеріалів [159].

Процес регенерації самого пародонтального комплексу полягає в новоутворенні цементу зубу, функціонально орієнтованих періодонтальних волокон та альвеолярної кістки, що відбувається вкрай рідко. Виходячи з цього всі можливості пародонтального лікування можна розділити на нижче зазначені категорії.

- Методи використання кісткових матеріалів та замінників, сприяючих регенерації кістки та періодонту;
- Біологічна модифікація цементу кореня зубу, яка сприяє створенню нового сполучнотканинного прикріплення;
- Обробка рани, яка сприяє міграції та проліферації клітин періодонтальної зв'язки;
- Використання біологічних медіаторів, які стимулюють міграцію та проліферацію клітин періодонтальної зв'язки, та/або індукують диференціацію мезенхімальних клітин в клітини періодонтальної зв'язки.

В теперішній час отримано позитивні результати впровадження в медичну практику досягнень молекулярної та клітинної біології з трансплантації різних регуляторних речовин, в тому числі і стовбурових клітин, з метою заміщення в організмі втрачених і зношених тканин. У цьому полягає

основний напрямок регенеративної (відновлювальної) медицини, який базується на здатності живих організмів з часом відновлювати пошкоджені тканини, а іноді й цілі втрачені органи.

В останні роки найперспективнішим методом досягнення повної регенерації втрачених тканин є так звана «тканинна біоінженерія», яка полягає в конструюванні і вирощуванні поза організмом людини живих, функціональних тканин або органів для подальшої трансплантації пацієнтові з метою заміни або стимуляції регенерації пошкоджених органів і тканин. При цьому на місці дефекту повинна бути відновлена тривимірна структура тканини [160-164].

«Тканинна інженерія» – галузь науки, яка спрямована на відновлення і вирощування втрачених або пошкоджених тканин з використанням матеріалів для скаффолдів (матриксів), які в поєднанні з клітинами і факторами росту забезпечують рішення поставленого завдання [165]. Можна виділити кілька підходів у здійсненні функцій тканинної інженерії:

- 1) застосування біоматеріалів як матриксів;
- 2) використання клітин для створення штучних тканин і органів;
- 3) створення матриксів і використання біосигналів, які здатні стимулювати клітинний ріст, проліферацію і клітинне диференціювання [166-174].

Для конструювання тканино-інженерного комплексу використовують різноманітні регенеративні біоматеріали, клітини і сигнальні молекули (фактори росту), які беруть участь в регенерації тих чи інших тканин, в тому числі і стовбурові клітини різного походження [175]. Основні вимоги висуваються до регенеративних біоматеріалів, що становлять каркас (scaffold - структурна матриця) тканино-інженерного комплексу. Вони повинні зберігати простір під клаптем для проростання тканин, направляти ріст клітин в простір дефекту, вивільняти сигнальні молекули в ділянці дефекту, бути біодоступними, біосумісними, біодеградуємими та підтримувати біомеханічні властивості трансплантованого біоінженерного каркасу [176-178].

Прогрес в дослідженні перспективи застосування стовбурових клітин і тканинної біоінженерії для спрямованої тканинної регенерації спостерігається і в стоматологічній практиці [179-182].

Тому актуальним є пошук нових лікарських засобів і природних біорегуляторних речовин для направленої регенерації тканин і неінвазивних шляхів їх введення при лікуванні стоматологічних захворювань. До них можна віднести низькомолекулярні пептидні біорегулятори і аутологічну плазму, збагачену тромбоцитами (PRP - platelet-rich plasma).

Ін'єкції аутоплазми крові показали виражений клінічний ефект. Вдалося домогтися потовщення обсягу ясен, яке склало 1,10-2,08 мм в різні періоди спостереження. Зміну біотипів ясен в досліджуваній області було досягнуто за допомогою триразового введення аутоплазми [183].

Препарат гіалуронової кислоти використовується для естетичного відновлення м'яких тканин, для реконструкції та консервації сосочків з попереднім проведенням закритого кюретажу [184]. Найбільш актуальним на даний момент є дослідження застосування ін'єкцій препаратів гіалуронової кислоти для корекції / усунення дефектів ясенних сосочків, прилеглих до зубів і мембран, для відновлення структури і функції сполучної тканини [185].

При недоліках ясенних сосочків виникають «чорні трикутники», які є естетично і функціонально проблематичними, можуть бути значно скорочені або повністю усунені. Терапевтичний підхід заснований на вирощуванні людських кератиноцитів / фібробластів в лабораторії, які передаються пацієнту на біологічних носіях. Одна з найбільш широко використовуваних опор для носіїв є гіалуронова кислота [186,187].

Гіалуронова кислота зустрічається в природі нессульфатованих глікозаміногліканів, що складається з лінійної послідовності D-глюкуронової кислоти і N-ацетил-D-глюкозаміну, який виявлений в сполучній тканині, синовіальній рідині суглобів і склоподібному тілі очей. Крім того, гіалуронова кислота бере участь у багатьох біологічних процесах, таких як гідратація тканин, протеогліканна організація у позаклітинному матриксі,

неоваскуляризація і реіннервація, диференціювання клітин, їх поведінку і відновлення тканин [188,189].

Під час процедури збільшення ясен, окістя, відібрані зуби були оголені, і мембрана, яка містить культивовані фібробласти, була адаптована і розміщена на місці. В результаті чого через три місяці після операції збільшення кількості ясен було отримано і гістологічне дослідження виявило повністю кератинізовану тканину на всіх оброблених областях.

При використанні технології тканинного інженерінгу був застосований трансплантат гіалуронової кислоти аутологічних клітин для процедури збільшення ясен, що забезпечувало збільшення ясен в дуже короткий час без будь-якого дискомфорту для пацієнта [190-196].

Регенерація тканин може бути досягнута шляхом стимулювання механізмів відновлення організму, зокрема, шляхом доставки стовбурових клітин в позаклітинний матрикс (ВКМ), які можуть виконувати біологічні функції, і матеріалів, що можуть функціонувати як каркаси для стимулювання проліферації клітин.

Матрикс формує унікальне мікрооточення клітини, виконуючи різні структурні і регуляторні функції, для успішного функціонування штучної системи - її основа, тобто підкладка, повинна задовольняти цілому ряду вимог, серед яких біосумісність, здатність до біодеградації з утворенням природних метаболітів, певні фізико-хімічні, механічні і адгезійні властивості, пориста структура носія [197,198].

Чітко прописаних стандартів матеріалів, що застосовуються в регенеративній медицині і «тканинній інженерії», немає, проте з численних робіт [199], можна виділити ряд вимог, яким матеріал повинен відповідати:

- біосумісність;
- біодеградуємість (недеградуємість - в залежності від потреб);
- атравматичність;
- висока здатність до сорбції;
- мінімальна імунна відповідь організму;

- наявність взаємопроникливих порів, необхідних для проліферації клітин;
- фізико-механічні характеристики, наближені до властивостей зовнішнього клітинного матриксу.

Щоб забезпечити прикріплення і проліферацію клітин, матеріали на основі природних і синтетичних біодеградуємих полімерів повинні володіти певними адгезивними властивостями і пористою структурою.

Висока пористість і необхідний розмір порів біополімерного матриксу є основними умовами для заселення клітинами і проростання тканин.

1.5 Гіалуронова кислота: особливості будови і властивості

Гіалуронова кислота (ГК), представляє собою аніонний, однолінійний глікозаміноглікан, який складається з регулярно повторюваних залишків D-глюкуронової кислоти і N-ацетил-D-глюкозаміна. Аміноцукор в молекулі ГК пов'язаний з D-глюкуроною кислотою через 1,3-глікозидний зв'язок, а дисахаридна ланка повідомляються через 1,4-глікозидний зв'язок [200]. Наявність гідроксильних, карбоксильних і ацетамідних груп, що містяться в молекулі ГК, надають їй високу гідрофільну здатність, а також можуть створювати безліч внутрішньо-і водневих зв'язків у водному розчині.

Водневі зв'язки надають певну жорсткість молекулярної ланцюга ГК, і в конформаційному вигляді вона може постати у вигляді як подвійної або одинарної спіралі, у вигляді витягнутих ланцюгів або ж зачіпатися у вигляді петельок. Завдяки присутності полярних і неполярних ділянок в макромолекулі, ГК має здатність вступати у взаємодію з різними хімічними сполуками, що дозволяє переробляти її в матеріали різного спектру застосування [201].

Так як гіалуронова кислота – полісахарид, який є одним з основних компонентів позаклітинного матриксу, що входить до складу сполучної, епітеліальної і нервової тканин, сировиною для його отримання виступають різні клітинні структури хребетних (півнячі гребені, мозкові хрящі, синовіальна рідина суглобів), крім цього існує біотехнологічний спосіб виділення ГК з

рослинної сировини за допомогою ферментації бактерій типу *Streptococci* і *Lactococcuslactis* [202].

Отримана з сировинних джерел ГК являє собою сильно гідратовану натрієву сіль, яку позначають як гіалуронан або гіалуронат. ГК і її солі – водорозчинні полімери, мають відмітну властивість, розчинятися при фізіологічних значеннях рН у воді. Полімерний ланцюг макромолекули ГК приймає конформацію клубка, що призводить до утворення високов'язких розчинів при малих концентраціях, а при більш високих (1-4 % мас.) – псевдопластичних рідин, які іменовані в деяких літературних джерелах «псевдогелями» і є нестабільні при впливі зсуву [203-207].

При введенні гіалуронової кислоти в організм, наприклад, в шкірний покрив, під дією тканинних гіалуронідаз і вільних радикалів відбувається біодеструкція полісахариду з утворенням низькомолекулярних фрагментів і олігосахарів, які і відповідають за комплекс позитивних властивостей ГК, і дозволяють використовувати даний полімер як носій для уповільненого вивільнення речовин. Зв'язуючись з фібробластами і кератиноцитами, вони запускають ланцюг внутрішньоклітинних реакцій, забезпечують не тільки синтез нових біологічно активних речовин, але і активацію міграції клітин в місце впровадження, і як результат – оновлення стану міжклітинного матриксу – середовища і мікрооточення, в якому функціонують клітини [208].

Як відомо, реологічні та біологічні властивості гіалуронової кислоти змінюються в залежності від її молекулярної маси, значення якої знаходяться в діапазоні від 5 до 9000 кДа, тому знання про властивості, супутніх кожному значенню молекулярної маси полімеру необхідні для правильного використання ГК при отриманні біоматеріалів. Так, в роботах показано, що використання гіалуронової кислоти з молекулярною масою вище 500 кДа пригнічує розмноження і проліферацію клітин, тоді як продукти її деградації, значення молекулярної маси якої не перевищують 100 кДа, значно збільшують швидкість проліферації фібробластів і позитивно впливають на утворення нових кровоносних судин [209].

ГК з молекулярної масою 135кДа стимулює утворення дендритних клітин і підсилює реакцію імунної системи на чужорідні антигени, що важливо при трансплантації органів. У дослідженні [210], вивчення впливу ГК молекулярної маси (10 кДа, 100 кДа) на реологічні характеристики і ферментативну активність, показало, що ця сполука з високою молекулярною масою при низьких концентраціях і низькомолекулярна ГК з високою концентрацією мають подібні показники зі значеннями слини людини в діапазоні швидкостей зсуву, які необхідні для нормального функціонування ротової порожнини та інгібуюча дія високомолекулярної ГК на активність лізоциму і пероксидази набагато вища [211].

Деградація гіалуронової кислоти може відбуватися за різними напрямками, одним з яких, як показано вище є деструкція під дією гіалуронідази в живих тканинах, так звана ферментна деструкція. Крім цього, ГК чутлива до кислотно-лужного гідролізу і до впливу окислювально-відновних середовищ [212].

1.6 Анатомо-функціональні особливості амніотичної мембрани

Різні природні структури мають необхідний терапевтичний потенціал для використання в якості тканинної інженерної структури. Серед них є внутрішні оболонки тіла. Мембрани насправді складаються з тонких шарів клітин або тканин, що огортають тіло, його внутрішні органи та порожнини (Inci et al., 2020). Амніотична мембрана (АМ), брижа, сальник, перикард, очеревина та плевра - все це приклади цих мембран із терапевтичним застосуванням (Inci et al., 2020) [213].

АМ або амніон – це тонка оболонка на внутрішній стороні плаценти плода; вона повністю оточує зародок і обмежує навколоплідну порожнину, заповнену навколоплідними водами. В останні роки досліджено структуру та функції амніону, зокрема плюрипотентні властивості АМ-клітин, які є привабливим джерелом для трансплантації тканин. АМ є промотором

епітелізації і є непухлинною тканиною, і його використання не має етичних проблем. Застосування АМ було розглянуто в багатьох статтях. Останні опубліковані огляди зосереджені на застосуванні АМ в офтальмології (Ehredt et al., 2019; Lacorzana, 2020), операціях, пов'язаних з кістками (Horn et al., 2019; Puyana et al., 2019), опіку шкіри (Hossain et al., 2020) та трансплантат шкіри (Liu et al., 2018; Liang et al., 2019). Завдяки своїм привабливим властивостям, АМ застосовується в ряді хірургічних процедур, пов'язаних з реконструкцією очної поверхні та сечостатево-сечових шляхів, шкіри, голови та шиї. Наразі найбільш відомими та найбільш сприятливими застосуваннями АМ є реконструкція очної поверхні, аплікації шкіри та тканинна інженерія. Однак АМ може застосовуватися і в онкології. У цій області АМ може запобігти доставці поживних речовин та кисню до ракових клітин і, отже, перешкоджати ангиогенезу пухлин, росту та метастазуванню [214-217]. АМ також досліджувалась для лікування загоєнь ран, вона застосовувалась як лікарський засіб у двошаровій пов'язці для ран (Choi et al., 2014) [218].

Традиційні методи лікування регенерації тканин пародонту включають використання остеопластичних матеріалів, направлену регенерацію тканин та застосування похідних емалевого матриксу на основі базових досліджень та клінічного досвіду. Однак важко повністю реконструювати тканини пародонта через обмежену здатність до регенерації, коли вони пошкоджені [219]. Отже, застосування біоматеріальних каркасів на основі АМ для керованої регенерації тканин пародонту розглядається як вибір лікування завдяки чудовим характеристикам АМ.

АМ складається з п'яти шарів: амніотичний епітелій, базальна мембрана, компактний шар, шар фібробластів, спонгіозний шар. Товщина її варіює від 0,02 мм до 0,5 мм. Позаплацентарна зона амніона вистлана кубічним або потовщеним епітелієм, в плацентарній зоні він в основному циліндричний.

Амніотичний епітелій має високу метаболічну активність. Його цитоплазма багата ліпідами (фосфоліпіди, лецитин, кефалин, тригліцериди та ін.), полісахариди, протеїнами, мукополісахариди, фосфорними сполуками, є

також багатий арсенал ферментів, в тому числі ферменти синтезу простагландинів: фосфоліпази, простагландин синтази, циклооксигенази. Базальна мембрана розташована під амніотичним епітелієм, вона являє собою мережу ретикулярних волокон. До базальної мембрани прилягає компактний шар, що складається з переплетених, тісно розташованих ретикулярних волокон. За ним слід шар фібробластів [220].

Базальна мембрана складається з великої кількості протеогліканів, багатих сульфатом гепарину, які очевидно виконують бар'єрну функцію та регулюють проникність амніотичної мембрани. Амніон містить велику кількість колагену, гіалурону і, переважно, малих протеогліканів, таких як біглікан і декорін. Колаген 1, 3, 4, 5 і 7 типів, ламінін, фібронектин знайдені в базальній мембрані і стромальному амніоні. Спонгіозний шар побудований з ретикулярних волокон, між петлями яких накопичується рідина. У цьому шарі зустрічаються фібробласти і макрофаги.

Імунологічні особливості амніотичної мембрани. Клітини епітелію АМ не мають на своїй поверхні HLA-A, B, C або DR-антигенів. Однак, радіологічні дослідження *in vitro* в середовищі культивованих амніотичних клітин виявили, що незначні кількості даних субстанцій все ж синтезуються. Це було підтверджено дослідженнями J.Houlihan et al. (1995), які виявили експресію антигенів класу 1b HLA і вкрай обмежену експресію антигенів класу 1a. L.Sutton et al. (1986) показали, що сполучнотканинний шар амніону містить моноклеарні фагоцити, які найімовірніше і відповідають за експресію вищевказаних антигенів.

Імунологічна відповідь на трансплантат амніотичної мембрани не зареєстрована: при дослідженні на добровольцях не було виявлено жодного випадку клінічного прояву гострої реакції відторгнення трансплантата, також не виявлено жодного випадку продукції антитіл проти HLA-антигенів. M.Kubo et al. (2001) на моделі ксенотрансплантації АМ щурам породи Люїс не виявили значної імунологічної відповіді при її трансплантації [220].

Цитокіни АМ. Переважаючими цитокінами амніотчного епітелію є інтерлейкін 6 і 8. Вони виявлені у високих концентраціях в амніотичній рідині. J.Keelan et al. (1999) виявили ці цитокіни в середовищі з культивованими амніотичною клітинами в співвідношенні ІЛ6: ІЛ8 = 5: 1 (таке само як і в амніотичній рідині). Експресія цих цитокінів збільшується в присутності ІЛ-1, бактеріальних ліпополісахаридів і підпорядкована регуляції стероїдами (дексаметазон). ІЛ-1 продукується клітинами амніотчного епітелію *in vitro* і розглядається як один з регуляторів синтезу простагландинів. P.Cheung et al. (1990) виявили в АМ простагландиндегідрогеназу і простагландин-інактивуючий фермент.

Більш високий рівень факторів росту був знайдений в АМ зі збереженим епітелієм, що свідчить про їх епітеліальне походження. В даний час саме наявність цих факторів в АМ пов'язують її здатність активувати процес епітелізації слизової оболонки. Ефекти, що виникають при трансплантації амніотичної мембрани: запобігання епітеліального апоптозу, поліпшення міграції епітеліальних клітин, поліпшення диференціювання епітеліальних клітин, зниження процесів фіброзування [221].

Модифіковані конструкції АМ з різними препаратами в основному використовувались для поліпшення антимікробної дії АМ (Singh et al., 2008; Murphy et al., 2019). Singh et al. покращив антибактеріальну властивість АМ шляхом осадження срібла, це призвело до утворення бар'єру проти проникнення бактерій. Крім того, ця структура отримала контрольоване виділення вологи і продемонструвала велику здатність до поглинання (Murphy et al., 2019).

Іншим підходом до покращення властивостей АМ є поєднання її з гелем або біологічним клеєм. Ці композити в основному призначені для поліпшення адгезивних та біологічних властивостей АМ. Наприклад, АМ широко застосовується для реконструкції очної поверхні; однак через неефективні механічні властивості свіжої та висушеної АМ одношарова трансплантація АМ виявилась недостатньою. Більше того, простого додавання декількох шарів АМ

недостатньо, оскільки вони вимагають надмірних швів, щоб залишатися прикріпленими один до одного і до поверхні ока (Brücher et al., 2020) [221]. Однак, додаючи до цієї структури фібриновий клей, можна посилити механічні властивості АМ, одночасно зменшуючи потребу в швах. Більше того, фібрин утворює подвійний шар АМ, що покращує швидкість загоєння епітелію (Cai et al., 2015) [222]. Клей фібрину також додавали в АМ лише для того, щоб уникнути швів для скріплення АМ з очною поверхнею (Sekiyama et al., 2007). В іншому експерименті, вплив покриття гелю з хітозаном та / або галофугіноном на АМ для зменшення адгезії тканин вивчали Washburn et al. (2010) [223]. Вони оцінили цей ефект на моделі пошкодження матки у щурів і дійшли висновку, що АМ як одношарова, так і покрита гелем знижує середню та сильну адгезію тканин. Подібним чином, коли АМ покривали галофугіноном окремо або в поєднанні з хітозаном, відсоток спайок зменшувався. Оцінювали ефективність поліпропіленової сітки, покритої АМ, порівняно з одиночною поліпропіленовою сіткою для профілактики спайок живота. Результати показують меншу адгезію та запалення, вищу епітелізацію та поліпшення загоєння ран при застосуванні АМ (Najibpour et al., 2016; Soyulu et al., 2018) [224].

1.7 Механізми терапевтичної дії амніотичної мембрани

Для пояснення позитивного терапевтичного ефекту трансплантації АМ були запропоновані різні механізми, АМ має протизапальні, антибактеріальні, противірусні та імунологічні характеристики, а також антиангіогенні та проапоптотичні властивості.

1. Ефект біологічної пов'язки. А. Sorsby (1947) вперше використав АМ як біологічну пов'язку в лікуванні лужних опіків очей. Y. Nao (2000) продемонстрував наявність мРНК в антиангіогенних і протизапальних факторах АМ. Застосування АМ як біопов'язки для покриття зони

пошкодження або запалення виявило не тільки її благотворний вплив на процеси загоєння, але і значний анальгезуючий ефект [225].

2. Активація епітелізації. S.Lee і S.Tseng в експерименті довели, що базальна мембрана амніона є субстратом, який полегшує міграцію епітеліальних клітин та підсилює їх адгезію. Також вона стимулює диференціювання клітин, що сприяє прискоренню процесу епітелізації [226].

Особливо слід зазначити, що морфологія епітеліальних клітин, які вирости на амніоні ідентична нормальним клітинам в залежності від зони трансплантації. N.Koizumi і J.Shimazaki (2000) на підставі даних своїх досліджень вважають, що ефект активації епітелізації багато в чому визначається наявністю факторів росту в АМ [227].

3. Супресія запалення і рубцювання. В даний час пригнічення процесу рубцювання при трансплантації АМ пояснюють блокуванням механізму перетворення фібробластів в міофібробласти. Протизапальний ефект пов'язують з тим, що АМ запобігає інфільтрацію підлеглих тканин поліморфноядерними лейкоцитами, а також з наявністю в стромальному матриксі АМ цитокінів-інгібіторів запалення і тканинних інгібіторів металопротеаз [228,229].

4. Інгібіція ангіогенезу. Y.Nao et al (2000) встановили, що в епітеліальних і мезенхімальних клітинах АМ містяться потужні антиангіогенні фактори: ендостатін, тромбоспондин-1, тканинні інгібітори металопротеаз (TIMP-1, -2, -3, -4). Крім того, АМ утворює фізичний бар'єр, що перешкоджає проникненню запальних медіаторів і активаторів ангіогенезу в патологічний осередок.

5. Антимікробний ефект. АМ має антимікробну дію проти ряду мікроорганізмів, що забезпечується формуванням фізичного бар'єру за рахунок наявності базальної мембрани, а також присутніх в АМ лізоциму, трансферину, 7S-імуноглобуліну, лактоферину, специфічних антитіл (з'являються в 3 триместрі вагітності). Прогестерон, як відомо, також має бактеріостатичний ефект проти стафілококів та інших грампозитивних мікроорганізмів [230-232].

6. Субстрат для вирощування стовбурових і епітеліальних клітин. Амніотична базальна мембрана успішно використовується як субстрат для культивування стовбурових клітин, взятих за допомогою біопсії, що дозволяє домагатися епітелізації поверхні [233-235].

1.8 Механізм дії збагаченої тромбоцитами аутоплазми

В останні роки показана здатність комплексного регулювання з боку факторів росту нормалізації структури тканини і реакції на її пошкодження, відзначено важливу роль і ефективність використання факторів зростання для відновлення пошкоджених тканин [236-239]. Тому, використання факторів росту представляється корисним в клінічній практиці, оскільки це сприяє швидкому лікуванню з відновленням повноцінної тканини та забезпечує швидке і безпечне повернення до необмеженої діяльності. Багата тромбоцитами плазма (PRP) - простий, дешевий і мінімально інвазивний спосіб отримати природну концентрацію аутологічних чинників зростання, тому в даний час широко проводяться експерименти в різних областях медицини для виявлення її здатності сприяти регенерації тканини з низьким потенціалом до загоєння. Області застосування: спортивна медицина, ортопедія, стоматологія, дерматологія, офтальмологія, пластична і щелепно-лицьова хірургія і т.д. [240,241].

Було помічено, що хоча секреція факторів росту відбувається, головним чином, протягом першої години, тромбоцити залишаються життєздатними протягом 7 днів і продовжують генерувати чинники зростання, відповідно було зроблено припущення, що одна єдина ін'єкція в пошкоджену тканину могла б бути достатнім лікуванням в більшості клінічних спостережень [242].

Виходячи з цього, можна заключити, що даний перспективний інноваційний підхід слід застосовувати як можна ширше в клінічній практиці. Однак, існуючі дані по використанню PRP в доклінічних і клінічних дослідженнях спірні [243]. Якщо література про роль ізольованих факторів

росту при регенерації тканини широко представлена, то досліджень на тваринах і у клініці, які можуть продемонструвати реальний потенціал PRP, що сприяє відновленню різних тканин, недостатньо.

Тромбоцити – перший елемент, який прибуває на місце пошкодження тканин, і вони особливо активні на початку фази загоєння запального процесу. Вони грають важливу роль в агрегації згустку, гомеостазі через клітинні мембрани і вивільненні речовин, які сприяють відновленню тканин і які впливають на реакційну здатність кровоносних судин і клітин крові, що беруть участь в ангіогенезі, регенерації і запаленні [244]. Тромбоцити в секреторних гранулах містять фактори росту (GF), сигнальні молекули, цитокіни, інтегрини коагулюючих білків, молекул адгезії, а також деякі інші молекули, які синтезують в мегакаріоцити. У тромбоциті існує три основних відсіку для зберігання: альфа-гранули, щільні гранули та лізосоми [245].

Тромбоцити містять щільні гранули з біологічно активними молекулами, вони не є ростовими факторами, але беруть участь у біохімічних і обмінних процесах організму, в тому числі в запальних і регенеративних реакціях.

Альфа-гранули є також джерелом цитокінів, хемокінів і багатьох інших білків, по-різному залучених в стимулювання хемотаксису, проліферацію клітин і дозрівання, модуляцію підбурливих молекул і залучення лейкоцитів. Крім того, тромбоцити зберігають антибактеріальні і фунгіцидні білки, здатні запобігати інфекції, протеази, такі як металопротеаза -4 і фактори коагуляції. Крім альфа-гранул, тромбоцити містять щільні гранули, які зберігають і виділяють після активації АДФ, АТФ, іони кальцію, гістаміну, серотоніну і допаміну. Нарешті, тромбоцити містять лізосомні гранули, які можуть секретувати кислотні гідролази, катепсін D і E, еластази і лізоцим, і найбільш ймовірно інші, поки ще недостатньо добре вивчені молекули, роль яких в процесі відновлення тканини можна недооцінювати. Той факт, що тромбоцити декретують фактори росту і активні метаболіти, означає, що їх прикладне використання може мати позитивний вплив в клінічних ситуаціях, що вимагають швидкого ефекту і регенерації тканини [246-249].

Для виконання численних функцій тромбоцити мають безліч рецепторів, які здійснюють контакт між тромбоцитами і їх оточенням.

Вони визначають реактивність тромбоцитів з широким спектром агоністів і адгезивних білків. Деякі з цих рецепторів можуть експресувати тільки на активованих тромбоцитах. Деякі біологічні механізми, присутні в тромбоцитах, є спільними з іншими клітинами і, отже, вони містять деякі загальні цитоплазматичних ферментів, молекули передачі сигналу і компоненти цитоскелету [250-259].

Тромбоцити зазвичай відомі своєю роллю в гемостазі, але вони також грають ключове значення як проміжна ланка в процесі загоєння пошкодженої тканини за рахунок здатності виділяти зі своїх α -гранул чинники зростання. Тромбоцити містять пули зберігання факторів росту включаючи отриманий з тромбоцитів фактор росту (PDGF), трансформуючий фактор росту (TGF- β), тромбоцитів епідермальний фактор росту (PDEGF), судинний фактор ендотеліального зростання (VEGF), інсуліноподібний фактор росту 1 (IGF-1), фібробластичних фактор росту (FGF) і епідермальний фактор росту (EGF).

Тромбоцити містять велику різноманітність молекул білків, серед яких висока кількість сигнальних молекул, мембранних білків, регуляторні білки цитоскелету, цитокіни та інші біологічно активні пептиди, які ініціюють і регулюють загоєння ран. У відповідь на активацію тромбіном тромбоцити вивільняють більше 300 білків. Гранули тромбоцитів включають 190 мембранозв'язувальних і 262 фосфорильованих білків.

На додаток до їх відомої функції в гемостазі тромбоцити також виділяють речовини, які сприяють відновленню тканин, ангіогенезу та зменшенню запалення. Крім того, вони можуть індукувати диференціювання попередників ендотеліальних клітин в зрілі ендотеліальні клітини, а також індукують міграцію клітин кісткового мозку [260].

Фактори росту - високоспецифічні білки, присутні в крові в дуже малих концентраціях і активно беруть участь в ангіогенезі, а також виконують регуляторну та координуючу функцію між клітинами[224].

Це відбувається за рахунок індукції ендотеліальних клітин до проліферації і міграції [261,262].

Фактор росту фібробластів (Fibroblast Growth Factor, FGF) – потужний модулятор клітинного диференціювання, проліферації і рухливості клітин [263]. У 1971 р. Folkman J. першим звернув увагу на ендотеліальні клітини і вже до початку 1980-х років були виділені перші фактори росту фібробластів [264]. FGF є численною групою гепарин-зв'язуючих пептидів, серед яких найбільше біологічне значення, як індуктора фіброгенеза, грає β -FGF.

Фібробласти є основним клітинним елементом сполучної тканини. Фібробласти беруть активну участь у формуванні ВМ, в основному за рахунок синтезу його найважливіших компонентів (колагену, еластину, протеогліканів і глікопротеїнів). Похідні фібробластів - фіброцити підтримують міжклітинну речовина в певному структурному стані, а фібробласт руйнують її за умов, що вимагають ремоделювання каркаса волокон. Завдяки цим унікальним властивостям фібробластів, здійснюється одна з найважливіших функцій волокнистої сполучної тканини - репаративна [265].

При пошкодженні тканин запаленні макрофаги стимулюють фібробласти до більш активного синтезу різних факторів росту. Внаслідок цього фібробласти швидше мігрують до місця пошкодження, зв'язуючись з фібрилярними структурами через фібронектин і паралельно синтезуючи речовини ВМ. У складі фібробласта знаходяться колагенази - ферменти, які руйнують колаген. Руйнуючи старий колаген і синтезуючи новий, фібробласт сприяє його перебудові і утворенню сполучної тканини в місці пошкодження / запалення.

Тромбоцитарний фактор росту (PDGF-BB) є основним фактором (мітогеном) для певних груп клітин: фібробластів, клітин гладкої мускулатури і інших типів клітин. PDGF займає основну з провідних ролей в ембріогенезі і регенерації пошкоджених тканин. Виявлено та доведено його хемоатрактний і проліферативний вплив на всі клітини, які беруть участь в раньовому процесі, відзначено виражений вплив на клітини мезенхімального походження.

Активовані тромбоцити є головним джерелом PDGF-BB. Спочатку PDGF виявили в сироватці крові, але він відсутній у вільній від клітин плазмі крові. Синтез PDGF відбувається не в тромбоцитах, його синтез здійснюється в мегакаріocyтах і накопичується в α -гранулах. При руйнуванні одного тромбоцита вивільняється приблизно 1200 молекул PDGF. Загальна концентрація всіх ізоформ PDGF в сироватці крові підтримується на постійному рівні і становить 50-60 нг / мл. Відомо що міжклітинний колагеновий матрикс пов'язує PDGF [266]. В організмі клітини контактують з плазмою і тканинною рідиною, тому місцева секреція PDGF відіграє значну роль в регуляції їх проліферації [267].

У процес загоєння рани залучаються клітини, що знаходяться безпосередньо в зоні пошкодження. Активація та розпад тромбоцитів є стартом для процесу загоєння ран. PDGF-BB індукує спрямоване переміщення (хемотаксис) основних клітинних типів, які беруть участь в процесі репарації: лейкоцити, макрофаги, фібробласти. У різних типах клітин при стимуляції PDGF підвищується рівень експресії генів PDGF, а також відбувається секреція PDGF-подібних медіаторів [268].

Використання тромбоцитарних факторів росту у вигляді різних форм в даний час міцно зайняло своє місце в клінічній практиці. З огляду на універсальний механізм їх дії, вони застосовуються в різних галузях медицини і потенціал їх використання ще далеко не вичерпаний. До переваг методики можна віднести її безпеку і низьку собівартість. У той же час її застосування вимагає суворої відповідності протоколу використання, який при захворюваннях різних органів і систем може відрізнятися.

Аутологічна тромбоцитарна плазма стимулює утворення колагену, прискорює регенерацію м'яких тканин, індукує ріст судин, стимулює повноцінне відновлення кісткової тканини, забезпечує гемостаз, зменшує біль, знижує ризик інфекційних ускладнень, сприяє досягненню кращих результатів оперативного втручання, запобігає післяопераційним ускладненням [269].

Також є поодинокі роботи про застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, в ін'єкційній формі (I-PRP). До теперішнього моменту запропоновано кілька методів отримання та введення ін'єкційної форми тромбоцитарної аутоплазми в тканини для локальної стимуляції процесу регенерації [270].

Цікавим є дослідження ефективності застосування ін'єкційної форми плазми, збагаченої тромбоцитами, в комплексному лікуванні хворих з дистрофічно-запальними і дистрофічними захворюваннями пародонту, зокрема при наявності тонкого біотипу ясен і рецесії ясен.

Гелева форма аутоплазми застосовувалася в області лунок видалених зубів. Виявлено, що в тих лунках, які заповнювалися плазмою у вигляді гелю, відзначався більший обсяг краще організованої кістки, причому в більш короткі терміни і епітелізація рани також протікала набагато швидше [271-274].

В останні десятиліття у вітчизняній і зарубіжній літературі представлено достатньо даних про ефективність аутологічного тромбоцитарного згустку (PRF), який може використовуватись як самостійно, так і в комплексі з остеокондуктивними матеріалами для заповнення кісткових дефектів щелеп з метою оптимізації процесу репаративного остеогенезу і оптимізації процесу остеointegraції [275-278].

Резюме

Використання тромбоцитарної аутоплазми для підвищення регенерації кісткової і м'яких тканин різко зросла в ортопедії, пародонтології, щелепно-лицевій хірургії, урології та пластичній хірургії в останні роки. Проте, в літературі існують суперечності щодо додаткової переваги цієї процедури. У той час як деякі автори повідомляють про істотне зростання у формуванні кісткової тканини [277], інші автори не спостерігали поліпшення [281]. Процес загоєння ран являє собою складний механізм, який характеризується чотирма різними фазами: гемостаз, запалення, проліферація і ремоделювання.

Проліферативна фаза включає в себе формування кровоносних судин ендотеліальними клітинами і кістковий синтез остеобластів. Ці події координуються міжклітинною взаємодією і факторами росту, виділеними різними типами клітин. Дані літератури підкреслюють необхідність додаткових досліджень, спрямованих на вивчення плазми, збагаченої тромбоцитами, і її фізіологічної ролі в загоєнні ран [264].

Аналіз вивчення даних літератури свідчить про те, що незважаючи на численні дослідження по лікуванню захворювань пародонту ця проблема ще не досконало вивчена та представляє складну проблему. В доступній нам літературі ми не зустрічали робіт направлених на підвищення регенеративних можливостей тканин пародонту за допомогою комбінованого застосування плазмотерапії та гіалуронової кислоти.

Амніотична оболонка містить багато білків і факторів росту і, як результат, має цікаві властивості та структуру. Зі зростаючим інтересом до застосування АМ у регенеративній медицині актуальним є питання про розробку модифікацій для поліпшення її властивостей за допомогою додавання інших біологічних або синтетичних матеріалів. Шляхом додавання біологічно активних препаратів можна розширити застосування АМ у таких областях, як відновлення кісток, хрящів, дефектах ротової порожнини та багато інших.

Різні способи отримання збагаченої плазми, різні концентрації тромбоцитів, можливість присутності лейкоцитів в тромбоцитарному концентраті і багато інших факторів, спотворюючи результати досліджень, ускладнюють як до клінічні дослідження в цій області, так і клінічну оцінку ефективності цього підходу для прискорення процесів репарації тканин.

Враховуючи вище наведене ми зробили висновок, що ці питання потребують подальшого вивчення як в експериментальних так і в клінічних дослідженнях.

Основні положення розділу висвітлені в публікаціях:

Karalashvili L. Bone grafts for reconstruction of bone defects (review) / L. Karalashvili, A. Kakabadze, M. Uhryn, H. Vyshnevskaya, K. Ediberidze, Z. Kakabadze // Georgian Med News. – 2018. – № 282. – P. 44-49. *Участь здобувача полягає у проведенні інформаційних досліджень, написанні огляду літератури.*

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Враховуючи значну поширеність захворювань пародонту та значну проблему в лікуванні, для вирішення поставленої мети та завдань роботи нами були проведені експериментальні, морфологічні, клінічні, функціональні, біохімічні та статистичні методи дослідження, які дозволили нам розробити та обґрунтувати ефективні консервативні та хірургічні регенеративні методики лікування хворих з хронічним генералізованим пародонтитом.

Експериментально-клінічні дослідження виконувались на 2 експериментальних базах, в ДУ «ІСЦЛІХ НАМН», м. Одеса, Україна та в лабораторії клітинної терапії на базі кафедри клінічної анатомії Тбіліського державного медичного університету, м. Тбілісі, Грузія, а також дослідження мікроциркуляції тканин пародонту проводилось на базі українського інституту пластичної хірургії і косметології «Віртус», м. Одеса, Україна.

Виходячи з мети і завдань дослідження робота була розділена на 2 частини: експериментальну і клінічну. На початковому етапі досліджень була проведена оптимізація методів отримання децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани людини. Одночасно був розроблений метод поєднання PRP в комбінації з гіалуроновою кислотою. Після цього ми приступили до розробки методу отримання біологічно активної мембрани, що складається з децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани людини з нанесенням на її поверхню PRP і гіалуронової кислоти. Ефективність біологічно активної мембрани була досліджена на експериментальних моделях пародонтиту.

2.1 Дизайн дослідження

Експериментальні дослідження проведені згідно вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» [282] та Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах [283] з дотриманням біоетичних норм.

В якості експериментальних тварин були обрані білі лабораторні щури стадного розведення обох статей, масою 200-250 г.

Всього було проведено 5 серій експериментальних досліджень, в яких було використано 298 лабораторних тварин (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Характеристика експериментальних досліджень

Серія експерименту	Мета експерименту	Експериментальна модель	Кількість використаних щурів
1	2	3	4
1	Оцінка впливу ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми на метаболічні зміни в тканинах пародонта і в організмі в цілому	«Перекисна модель»	48 білих щурів
2	Оцінка регенеративних можливостей консервативних методик плазмогелю та гіалуронової кислоти на біохімічні та морфологічні зміни в пародонтальному комплексі	«Лігатурна модель»	50 білих щурів
3	Оцінити загоєння слизової альвеолярного відростку при застосуванні хірургічних регенеративних методик	Модель дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка	80 білих щурів

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
4	Оцінити відновлення кістки альвеолярного відростку при використанні хірургічних регенеративних методик	Модель дефекту альвеолярної кістки	40 білих щурів
5	Оцінити відновлення пародонтального комплексу при використанні хірургічних регенеративних методик	Модель мукогінгівального дефекту	80 білих щурів

Всі маніпуляції на тваринах проводилися під загальним знеболенням, використовуючи внутрішньочеревний метод введення етаміналу натрію (30 мг/кг). Всі хірургічні маніпуляції були проведені з використанням мікрохірургічної техніки та інструментів під хірургічним мікроскопом (Zeiss, Німеччина).

У клінічному обстеженні всього прийняли участь 260 хворих з хронічним генералізованим пародонтитом, які звернулись до консультативно – поліклінічного відділення ДУ «ІСЦЛХ НАМН». З них були відібрані 147 пацієнтів для участі у дослідженні ефективності лікування консервативними та хірургічними регенеративними методиками.

Консервативні регенеративні методики лікування проведені на 97 пацієнтах (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

**Розподіл пацієнтів, яким лікування проводили консервативними
регенеративними методиками**

Група дослідження	Кількість пацієнтів	Характеристика регенеративної методики	Кількість процедур
1	2	3	4
Група порівняння	15	Базова терапія без використання регенеративних методик	

Продовження таблиці 2.2

1	2	3	4
Основна група 1	14	Ін'єкційне введення препарату аутомезокріолізату (АМК)	3
Основна група 2	15	Ін'єкційне введення препарату плазми з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту (PRP)	3
Основна група 3	14	Ін'єкційне введення препарату плазми з низьким вмістом тромбоцитарних факторів росту (PPP)	5
Основна група 4	12	Ін'єкційне введення препарату плазми з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту та фібрином (i-PRF)	5
Основна група 5	15	Ін'єкційне введення препарату плазми з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту та фібрином (i-PRF) + інстиляція препаратом гіалуронової кислоти	Введення i-PRF -5 процедур, ГК – 1 процедура
Основна група 6	13	Безін'єкційне введення препарату плазмогель з тромбоцитарної аутоплазми + інстиляція препаратом гіалуронової кислоти	Введення плазмогелю - 3 процедури, ГК – 1 процедура
Основна група 7	14	Безін'єкційне введення препарату плазмогель з тромбоцитарної аутоплазми + інстиляція препаратом гіалуронової кислоти + ін'єкційне введення препарату i-PRF	Введення плазмогелю - 3 процедури, ГК – 1 процедура, i-PRF – 5 процедур, кожні 6 місяців

Базова терапія пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості включала: зняття зубних відкладень, згладжування поверхонь коренів з антисептичної обробкою порожнини рота 0,12 % розчином біглюконату хлоргексидину. Біоплівку і мінералізовані зубні відкладення

видаляли звуковим інструментом «Sonyflex», хендібластером «Prophiflex» (KaVo), використовуючи порошок на основі гліцину - Perio (KaVo). Згладжування поверхні коренів проводили за допомогою зоноспецифічних кюрет Грейсі (Hu-Friedy). Проводили навчання індивідуальному догляду за ротовою порожниною, який включав щоденну 2-кратну чистку зубів з використанням лікувально-профілактичного гігієнічного комплексу: зубної пасти GUM «ActiVital», зубної щітки TePe «Supreme», ополіскувача GUM «ActiVital», а також йоржиків для очищення міжзубних проміжків, підібраних за розміром.

Хірургічні регенеративні методики лікування проведені у 35 пацієнтів (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

**Розподіл пацієнтів, яким проводили лікування регенеративними
хірургічними методиками**

Група дослідження	Кількість пацієнтів	Характеристика регенеративної методики
Група порівняння	17	Базова терапія + стандартна методика направленої кісткової регенерації
Основна група	18	Базова терапія + направлена кісткова регенерація з використанням плазми з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту та препаратом гіалуронової кислоти

2.2 Експериментальні дослідження

2.2.1 Методи виготовлення регенеративних препаратів, що використовувались в експерименті

Метод отримання децелюляризованої ліфілізованої амніотичної мембрани людини

Амніотичну мембрану отримували з доношених плацент від донорів, які підписали форму інформованої згоди, пологи яких відбувалися на 37-41 тижнях вагітності.

Дослідження було схвалено на засіданні Етичного комітету Грузинського Національного інституту медичних досліджень. Всі донори були з нормальним перебігом вагітності і народили здорових новонароджених з вагою від 2300 г до 3900 г.

Відразу ж після відходження плаценти в пологовому залі плаценту через пупкові артерії промивали 200,0 мл 0,9 % фізіологічним розчином в розведенні з гепарином (5000 ЕД). Після цього плаценту поміщали в стерильний контейнер та транспортували в лабораторію кафедри клінічної анатомії Тбіліського Державного Медичного Університету.

У лабораторних умовах плаценту клали на стерильний скляний столик та проводили кануляцію пупкових судин. Для цього 2 канюлі, які представляють собою судинний поліпропіленовий катетер діаметром 4 мм і довжиною 20 см, вставляли в пупкові артерії плаценти і фіксували їх 2-ма шовковими лігатурами. Третю канюлю, яка представляє собою судинний поліпропіленовий катетер діаметром 6 мм і довжиною 20 см вставляли в пупкову вену і також фіксували 2 шовковими лігатурами.

Процес децелюляризації починали через канюлі, введені в артерії, використовуючи для цієї мети 500,0 мл 0,9 % фізіологічного розчину. Промивання припиняли, як тільки з пупкової вени починав витікати чистий розчин. Після промивання плаценту заморожували при температурі -80 °С протягом 24 годин.

Заморожену плаценту розморожували при температурі + 4 °C та промивали PBS в кількості 500,0 мл через плацентарні артерії. Після цього плаценту перфузували розчином, що містить Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) (Sigma) і дистильовану воду протягом 72 годин, починаючи з 0,01 % SDS протягом 24 годин, потім 0,1 % SDS – 24 години і 1 % SDS – 24 години, після цього плаценту промивали дистильованою водою протягом 15 хвилин і тільки після цього використовували 1 % розчин Тритон X-100 (Sigma) протягом 30 хвилин для видалення залишків SDS. Далі плаценту промивали PBS протягом 1 години. Децелюляризовану плаценту стерилізували в 0,1 % розчині надуксусної кислоти (Sigma) в PBS протягом 3 годин і приступали до відокремлення амніотичної мембрани від децелюляризованої плаценти.

Відокремлену амніотичну мембрану розташовували на стерильному столику і нарізали на пластини розмірами 4x4 см та вносили їх в апарат для ліофілізації (Power Dry PL 6000 Freeze Dryers). Після ліофілізації амніотичні мембрани упаковували в одноразові поліетиленові пакети і проводили їх стерилізацію g-променями з дозою 15 кГр.

Децелюляризовані ліофілізовані амніотичні мембрани зберігали стерильно при кімнатній температурі до застосування.

Метод отримання плазми з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту (PRP)

Після евтаназії шляхом внутрішньочеревного введення летальної дози 0,5 % розчину тіопенталу натрію у щура збирали кров в пробірку, яку потім поміщали в центрифугу Kokusan H-9R (Японія). Проводили центрифугування в режимі 1600 обертів протягом 20 хвилин при температурі +29 °C. Після центрифугування з пробірки відбирали верхній і середній шари і переносили їх в чисту пробірку, яку поміщали в центрифугу, і виконували друге центрифугування в режимі 400 обертів протягом 15 хвилин. Таким чином була отримана плазма, розділена на 2 фракції: верхній шар - плазма, збіднена тромбоцитами; нижній шар - плазма, збагачена тромбоцитами.

Метод отримання ін'єкційної форми тромбоцитарної аутоплазми

Для отримання ін'єкційної форми тромбоцитарної аутоплазми (I-PRP) у щурів проводили забір крові в кількості 2 мл з хвостової вени. Кров збирали в пробірку (епіндорф) з 0,2 мл розчину гепарину. Пробірку встановлювали в центрифугу PC-6. Центрифугували на швидкості 1000 об/хв протягом 5 хвилин. Отриману фракцію плазми з пробірки відбирали інсуліновим шприцом.

Метод отримання плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми

Плазмогель отримували за наступною схемою: проводили забір крові у кожного щура з хвостової вени в кількості 2 мл, кров збирали в пробірку з 0,2 мл розчину гепарину, центрифугували на швидкості 1000 об/хв протягом 5 хвилин, отриману фракцію плазми з пробірки відбирали шприцом, який поміщали в термостат TDB-120 для приготування плазмогелю, при температурі + 80 °C протягом 7 хвилин, охолоджували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин.

Метод нанесення плазми з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту та препарату гіалуронової кислоти на поверхню децелюляризованої і регідрованої амніотичної мембрани людини

Для отримання біологічно активної мембрани з PRP та гіалуроновою кислотою - 1 мл PRP змішували з 0,5 мл гіалуронової кислоти в стерильній чашці. Ліофілізовану амніотичну мембрану поміщали в чашку Петрі і проводили регідратацію 0,9 % розчином NaCl протягом 40 хвилин. Далі, регідровану амніотичну мембрану поміщали на стерильний столик і покривали її передню поверхню препаратом PRP з гіалуроновою кислотою. Після цього мембрану перевертали і покривали зворотню сторону мембрани також використовуючи препарат PRP і гіалуронову кислоту.

Методи досліджень амніотичної мембрани людини

1. Скануюча електронна мікроскопія амніотичної мембрани до і після децелюляризації.

Для проведення скануючої електронної мікроскопії шматочки тканини децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани розмірами 0,5 x 0,5 см збезводнювали розчином етанолу і потім піддавали ліофілізації, після чого висушені тканини покривалися золотим пилом. Препарати піддавалися скануючій електронній мікроскопії на електронному мікроскопі Hitachi (Японія).

2. Метод визначення кількісного аналізу ДНК взятого з тканини нормальної та децелюляризованої амніотичної мембрани людини

ДНК була виділена з тканини нормальної і децелюляризованої хоріон-амніотичної мембрани людини стандартним методом з використанням комерційного екстракційного набору (G-spin Kit, iNtRON Biotechnology). Сумарну ДНК визначали на спектрофотометрі (NanoDrop 1000, Thermo Fisher Scientific) на довжині хвилі 260 нм. Всі зразки були нормалізовані до сухої ваги амніона людини.

2.2.2 Серії експериментальних досліджень

Створення перекисної моделі пародонтиту та лікування з використанням ін'єкційної форми тромбоцитарної аутоплазми

Ця модель заснована на ініціації пероксидації ліпідів та запалення і створювалася шляхом введення в раціон харчування щурів переокисленої соняшникової олії у дозі 1 мл / щура протягом 2-х місяців.

В якості експериментальних тварин в цій серії були обрані 48 білих лабораторних щурів стадного розведення, обох статей, масою 200-250 г, які перебували на стандартному раціоні віварію. Тварини були розділені на 3 групи по 16 в кожній.

Першу групу склали інтактні щури ($n = 16$, 8 самців і 8 самок) без моделювання пародонтиту.

Щурам другої групи моделювали пародонтит шляхом введення в раціон харчування переокислену соняшникову олію протягом 2-х місяців («перекисна» модель, $n = 16$, 8 самців і 8 самок). Переокислене масло готували наступним чином: рафіновану соняшникову олію прогрівали 40 хв. при температурі 130-150°C, провітрювати в присутності каталізатора - 0,1 % сульфату міді (CuSO_4). Перекисне число рафінованої олії - 0,3; переокислення - 2,6 (в г йоду) [284].

Щурам третьої (дослідної) групи ($n = 16$, 8 самців і 8 самок) після моделювання пародонтиту, двічі, з інтервалом в 7 днів вводили ін'єкційну форму тромбоцитарної аутоплазми (I-PRP), по перехідній складці в області різців і молярів верхньої і нижньої щелеп (3-5 ін'єкцій) в дозі 0,3-0,6 мл в залежності від кількості отриманої після центрифугування плазми. Для отримання аутоплазми у щурів проводили забір крові в кількості 2 мл з вен хвоста. Кров збирали в пробірку з 0,2 мл розчину гепарину. Пробірку центрифугували, отриману фракцію плазми з пробірки відбирали інсуліновим шприцом.

Тваринам першої і другої груп аналогічно вводили в тому ж обсязі 0,9 % розчин NaCl.

У всіх трьох групах тварини були розділені на 2 рівні підгрупи, так як тварин виводили з експерименту в 2 терміни: I термін - на наступний день після останнього введення фіз. розчину або плазми; II термін – через 3 тижні після останнього введення.

Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання з серця, виконували забір крові, біоптатів ясен і виділяли блоки щелеп із зубами для подальших біохімічних, морфометричних і морфологічних досліджень.

Створення лігатурної моделі дефекту м'яких тканин у фронтальній ділянці верхньої і нижньої щелеп і лікування методом плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми і гелю з високим вмістом гіалуронової кислоти

Суть моделі полягала в створенні ретенційного пункту для зубної бляшки, яка ініціює розвиток запалення і деструкції тканин пародонта.

В експерименті було використано 50 білих щурів стадного розведення, обох статей, 2,5 - 3 місячного віку, вагою 250-300г. Всі тварини знаходилися на стандартному раціоні віварію. Тварини були розділені на 5 груп по 10 тварин у кожній.

Перша група ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) була контрольною для оцінки здорових показників тварин.

Всім тваринам 2, 3, 4 і 5 груп моделювали пародонтит за допомогою лігатурної моделі, шляхом накладення лігатури на різець верхньої щелепи в області ясенної борозни на протязі 14 днів. Через 14 днів всім тваринам лігатури знімали і проводили лікування [285].

У другій групі ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) після зняття лігатури проводили обробку ясен марлевым тампоном змоченим 0,9 % розчином NaCl, 2 рази з інтервалом в 7 днів.

У третій групі ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) лікування проводили нанесенням на ясна плазмogелю з тромбоцитарної аутоплазми, 2 рази з інтервалом в 7 днів.

У четвертій групі ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) з лікувальною метою наносили препарат гіалуронової кислоти (ГК) на ясна у вигляді аплікацій по 0,2 мл, 2 рази з інтервалом в 7 днів. Використовували препарат hyaDENT BG, гель в'язко еластичний на основі гіалуронової кислоти. До складу якого входять: гіалуронова кислота - 2 мг, крос-пов'язана гіалуронова кислота -16 мг, натрію хлорид - 6,9 мг і вода для ін'єкцій до -1,0 мг. Виробник: BioScience GmbH, Німеччина. Сертифікат відповідності № UA.TR.039.343, дата видачі - 18.04.2018 р.

У п'ятій групі ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) після зняття лігатури проводили лікування з використанням комбінації плазмogелю з тромбоцитарної аутоплазми і препарату з гіалуроновою кислотою. З початку застосовували плазмogель за методикою описаною в третій групі тварин, а через день після

плазмогеля застосовували препарат гіалуронової кислоти у вигляді аплікацій, як описано в четвертій групі тварин. Інтервали між введеннями обох препаратів становили 7 днів.

З метою вивчення ефективності лікування плазмогелем, препаратом з гіалуроновою кислотою та комбінованої методики їх застосування, експериментальні тварини виводилися з експерименту в 2 терміни. Щурів підгруп I терміну виводили з експерименту на наступний день після другого введення. Щурам підгруп II терміну проводили евтаназію через 3 тижні після другого введення.

Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг / кг) і проводили забір крові, біоптатів ясен і виділяли блоки щелеп із зубами для подальших біохімічних та морфологічних досліджень.

Створення моделі дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка нижньої щелепи і відновлення дефекту з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК

У цій серії досліджень в якості експериментальних тварин були обрані 80 білих лабораторних щурів стадного розведення, обох статей, масою 200-250 г. Тварини були розділені на 4 групи по 20 в кожній. Всім тваринам попередньо створювали моделі дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка нижньої щелепи. За допомогою хірургічних ножиць висікали ділянку слизової оболонки альвеолярного відростка не пошкоджуючи окістя і кістку, що призводило до утворення дефекту слизової оболонки овальної форми, діаметром 3 мм (рис. 2.1). Після формування дефекту тварини були розділені на 4 групи [286].



Рис. 2.1. Сформований дефект слизової оболонки альвеолярного відростка щура

Першу групу склали щури ($n = 20$, 10 самців і 10 самок) з дефектом слизової оболонки альвеолярного відростка нижньої щелепи, яким не проводилося лікування і вони становили групу контролю.

Тваринам другої групи ($n = 20$, 10 самців і 10 самок) дефект слизової оболонки відновлювали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною, яка фіксувалася до країв дефекту вузловими швами з використанням атравматичної голки 7/0 (Ethicon). Розмір і форма амніотичної мембрани були адаптовані до розміру дефекту (рис. 2.2)

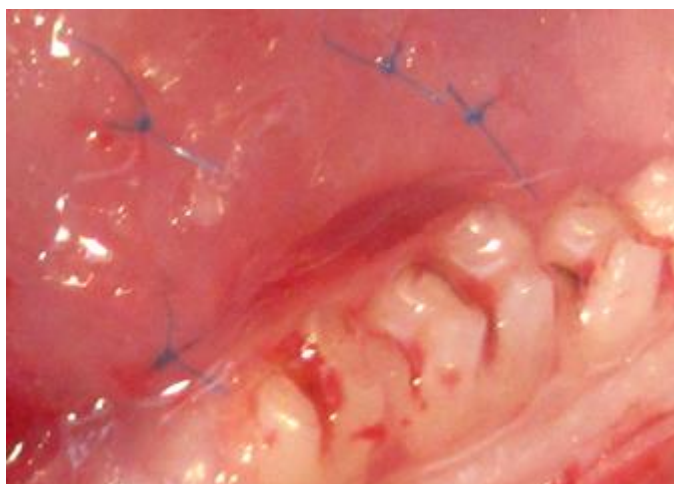


Рис. 2.2. Дефект слизової оболонки щура, відновлений децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною

Тваринам третьої групи ($n = 20$, 10 самців і 10 самок) дефект слизової закривали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеним на її поверхню PRP. Амніотична мембрана фіксувалася до країв дефекту так само, як і у тварин другої групи (рис. 2.3)



Рис. 2.3. Дефект слизової оболонки альвеолярного відростка щура, закритий децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеним на її поверхню PRP

Тваринам четвертої групи ($n = 20$, 10 самців і 10 самок) дефект слизової відновлювали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеним на її поверхню PRP і гіалуроновою кислотою (рис.2.4).

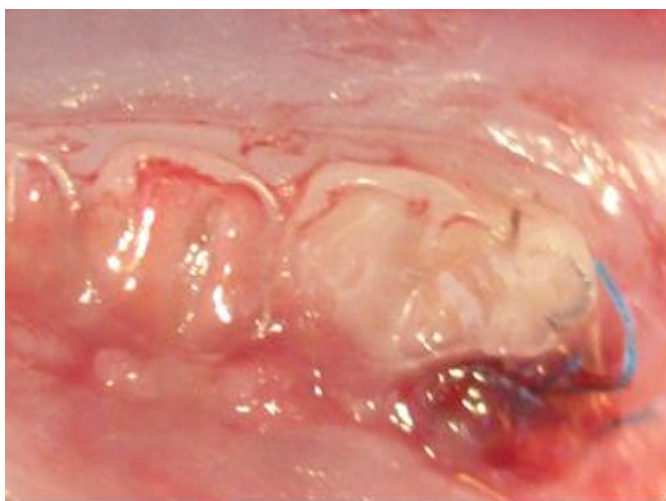


Рис. 2.4. Дефект слизової оболонки альвеолярного відростка щура відновлено децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеним на її поверхню PRP і гіалуроновою кислотою

Після операції тварини утримувались в стандартних умовах віварію та виводилися з експерименту на 3, 5, 7, 14 і 30 добу після операції внутрішньочеревною ін'єкцією летальної дози 0,5 % розчину тіопенталу натрію. Для аналізу загоєння за типом вторинного натягу доцільно динамічне вимір площі поверхні рани. Швидкість загоєння за формулою Л.Н. Попової [287] визначали наступним чином: на рану накладали стерильну пластинку целофану і на неї наносили контури рани. Рисунок переносили на міліметровий папір і підраховували площу рани. Потім обчислювали відсоток зменшення площі поверхні рани за добу по відношенню до попереднього результату за формулою 2.1:

$$S = \frac{(S - S_0) \times 100}{S \times t}, \quad (2.1)$$

де: S - величина площі рани при попередньому вимірі;

S_0 - величина площі рани зараз; t - число днів.

При нормальному перебігу загоєння добове зменшення площі рани має бути не менше 4 %.

При описі клінічних характеристик протікання раньового процесу використовувалася класифікація Кузіна М.И., який виділив три фази перебігу раневого процесу [288]:

- фаза запалення, в якій виділяють періоди: судинних реакцій; очищення ран від омертвілих тканин;
- фаза регенерації, в якій відбувається утворення і дозрівання сполучної тканини;
- фаза реорганізації рубця та епітелізації.

Створення моделі дефекту кістки альвеолярного відростка нижньої щелепи і відновлення дефекту з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК

У цій серії досліджень в якості експериментальних тварин були обрані 40 білих лабораторних щурів стадного розведення, обох статей, масою

200-250 г. Тварини були розділені на 4 групи по 10 у кожній. Всім тваринам попередньо створювали моделі дефекту кістки альвеолярного відростка нижньої щелепи. В умовах загальної анестезії слизову оболонку і окістя альвеолярного відростка нижньої щелепи відшаровували від кістки, створюючи повнослойний клапоть та хірургічним бором з водяним охолодженням (швидкість обертання 10000 оборотів) створювали дефект кістки з вестибулярної сторони в області молярів на нижній щелепі (рис. 2.5). Після формування дефекту кістки округлої форми, діаметром 3 мм у тварин першої групи ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) відсепарований клапоть повертали назад на місце (рис. 2.6) і ушивали його вузловими швами з використанням атравматичної голки 7/0 (Ethicon). Ця група тварин була контрольною [286].

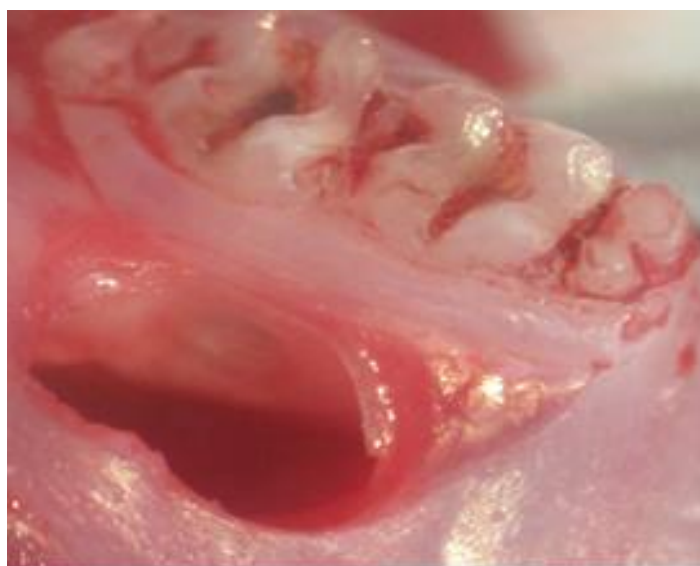


Рис. 2.5. Дефект кістки з вестибулярної сторони в області молярів на нижній щелепі щура



Рис. 2.6. Відсепарований клапоть ушитий вузловими швами

Тваринам другої групи ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) дефект кістки відновлювали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною, і накривали відсепарованим клаптем, який фіксували вузловими швами з використанням атравматичної голки 7/0 (Ethicon). Розмір і форма амніотичної мембрани були адаптовані до розміру дефекту.

Тваринам третьої групи ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) дефект кістки відновлювали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеним на її поверхню PRP.

Тваринам четвертої групи ($n = 10$, 5 самців і 5 самок) дефект кістки відновлювали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеним на її поверхню препаратом PRP і гіалуроновою кислоти.

У другій, третій і четвертій групах після відновлення дефекту кістки ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК укривали відсепарованим клаптем, який був фіксований вузловими швами з використанням атравматичної голки 7/0 (Ethicon).

Після операції тварини знаходились в стандартних умовах віварію і виводилися з експерименту на 3, 5, 7, 14 і 30 добу після операції внутрішньочеревною ін'єкцією летальної дози 0,5 % розчину тіопенталу натрію.

Відновлення мукогінгівального дефекту фронтальної ділянки верхньої та нижньої щелеп з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК

Ця серія досліджень була проведена на лігатурної моделі, яка описана вище. Були використані 80 білих лабораторних щурів стадного розведення, обох статей, масою 200-250 г. На 14 добу після створення мукогінгівального дефекту всім тваринам видаляли лігатури і за допомогою скальпеля оновлювали краї отриманого дефекту, розміром 2-3мм (рис. 2.7) [285].



Рис. 2.7. Створення мукогінгівального дефекту у щура

Тварини були розділені на 4 групи по 20 в кожній.

Тваринам першої групи (n = 20, 10 самців і 10 самок) мукогінгівальний дефект залишали без лікування. Ця група становила контрольну.

Тваринам другої групи (n = 20, 10 самців і 10 самок) мукогінгівальний дефект відновлювали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною.

Тваринам третьої групи (n = 20, 10 самців і 10 самок) мукогінгівальний дефект відновлювали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеним на її поверхню PRP (рис. 2.8).

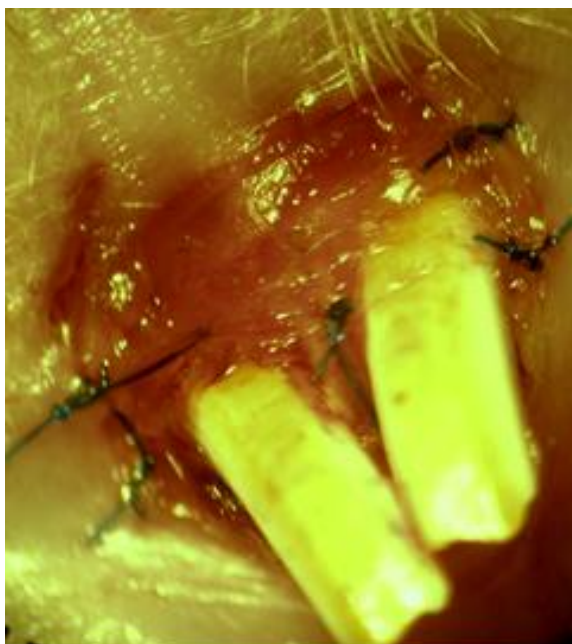


Рис. 2.8. Мукогінгівальний дефект відновлений децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеним на її поверхню PRP

Тваринам четвертої групи ($n = 20$, 10 самців і 10 самок) мукогінгівальний дефект відновлювали децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеними на її поверхню препаратами PRP і гіалуронової кислоти (рис.2.9).

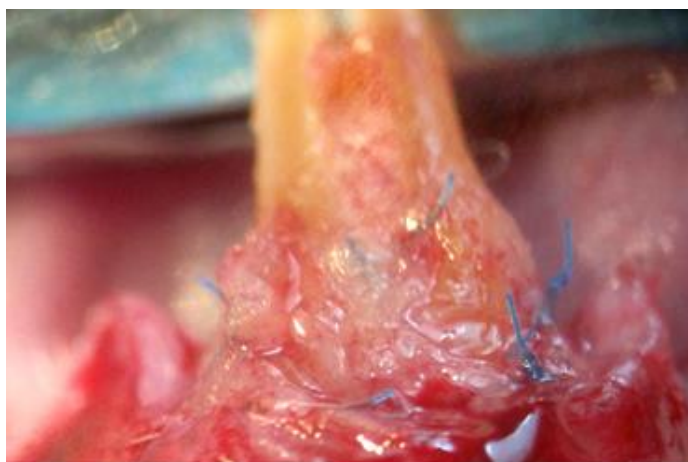


Рис. 2.9. Мукогінгівальний дефект відновлений децелюляризованою регідрованою амніотичною мембраною з нанесеними на її поверхню препаратами PRP і гіалуронової кислоти

У другій, третій і четвертій групах після відновлення мукогінгівального дефекту ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК фіксували до навколишніх

тканин вузловими швами з використанням атравматичної голки 7/0 (Ethicon). Розмір і форма амніотичної мембрани були адаптовані до розміру дефекту.

Після операції тварини утримувались в стандартних умовах віварію та виводилися з експерименту на 3, 5, 7, 14 і 30 добу після операції внутрішньочеревною ін'єкцією летальної дози 0,5 % розчину тіопенталу натрію.

2.3 Клінічні дослідження

Клінічне обстеження пацієнтів включало в себе виявлення скарг, збір анамнезу життя з метою виявлення загальних соматичних захворювань, наявності шкідливих звичок, прийому лікарських препаратів і аналізу історії хвороби.

Діагностика пародонтологічного статусу полягала в візуальній оцінці стану ясен, а саме кольору, щільності, зволоженості, у виявленні болісності при пальпації, кровоточивості при зондуванні і рухливості зубів, наявності високого прикріплення вуздечки нижньої губи, низького прикріплення вуздечки верхньої губи, короткої вуздечки язика, тяжів слизової оболонки і присінку порожнини рота.

Інструментальна діагностика проводилась пародонтологічним зондом University of North Carolina (Hu-Friedy, США) і фуркаційним зондом Nabers (Hu-Friedy, США). Глибину пародонтальних кишень, рецесію і втрату епітеліального прикріплення визначали шляхом зондування в 6 точках в ділянці кожного зуба без надмірного тиску на інструмент: мезіально-щічно, серединно-щічно, дистально-щічно, мезіально-орально, серединно-орально, дистально-орально. Для об'єктивної оцінки і опису пародонтологічного статусу використовували пародонтальну карту, яку заповнювали за допомогою програми Florida Probe (США). Оцінку стану тканин пародонта здійснювали за допомогою електронного зондуючого пристрою програмно-апаратного комплексу Florida Probe. Зондуючий пристрій являє собою титановий зонд з плаваючою трубкою-муфтою діаметром 0,5 мм, що забезпечує плавність

зондування з постійною величиною тиску 20 г/см². Зонд вводили в пародонтальні кишені або в зубоясеневу борозну, також як і звичайний зонд. Система дозволяла проводити обстеження від 2 до 6 точок навколо кожного зуба. Головною перевагою зондуючого пристрої цієї системи є постійна сила тиску в кожній точці зондування, за рахунок чого досягається висока точність вимірювань (до 0,2 мм). При використанні ручного зонда сила натискання може бути занадто мала або занадто велика і, в кінцевому підсумку, розбіжність результатів дослідження глибини кишень може скласти від 0,5 до 1,3 мм.

Програма може фіксувати дані обстеження наступних параметрів: реєстрація відсутніх зубів, рецесія ясен (в мм і кольоровому зображенні), глибина пародонтальної кишені (в мм і кольоровому зображенні), кровоточивість, ураження фуркацій, зубний наліт, рухливість зубів. Вимірювання проводяться автоматично і візуалізуються на екрані монітора у вигляді цифрової та колірної індикації. Результати обстеження можуть бути зафіксовані в вигляді пародонтальних карт, таблиць, діаграм і карт гігієни.

За допомогою пародонтального зонда вимірювали глибину пародонтальної кишені в 6 точках, реєстрували втрату ясеневого прикріплення (CAL) в 6 точках, наявність кровоточивості, рухливості, реєстрували зубний наліт.

Після цього обчислювали такі індекси:

1. Глибину пародонтальної кишені (глибина зондування - ГЗ) - відстань від краю ясен до точки, де зупиняється кінчик зонда.
2. Глибина рецесії - відстань від цементно-емалевого кордону до коронкового краю ясен.
3. Індекс втрати ясеневого прикріплення (CAL)
4. Рухливість зубів (РЗ) є дуже важливим фактором, тому що оклюзійна травма може стимулювати прогресування генералізованого пародонтиту.
5. Стан кісткової тканини в області фуркації - це дослідження дефекту кісткової тканини міжкореневої перегородки в області фуркації багатокорневих зубів.

Крім цього, за допомогою цієї програми досліджували гігієнічні і пародонтологічні індекси, а також рухливість зубів. Результати обстеження були зафіксовані у вигляді пародонтальних карт. Всього обстежено сумарно 1687 зубів.

Визначали:

- індекс зубного нальоту (PL) О'Лірі (O'Leary et al., 1972) [289], який показує наявність над'ясеневого зубного нальоту на 4 поверхнях зуба, який візуалізується після фарбування. Відсутність зубної бляшки біля краю ясен не відмічається, наявність зубної бляшки відмічається зафарбовуванням. Підрахування відбувається за формулою і позначається у процентах:

$$PL = \frac{\text{кількість поверхонь, покритих зубною бляшкою}}{\text{кількість обстежених ділянок}} \times 100 \quad (2.2)$$

- кровоточивість при зондуванні (індекс BOP), Ainamo Bay 1975 [290], розрахунок за формулою:

$$BOP = \frac{\text{кількість точок з кровоточивістю}}{\text{кількість точок заміру}} \times 100 \quad (2.3)$$

2.4 Методи регенеративної терапії у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом

2.4.1 Консервативні регенеративні методики

В комплексне лікування пацієнтів крім базисної терапії було включено введення ін'єкційних форм консервативної регенеративної терапії.

Протоколи введення препаратів аутоплазми:

- АМК- 3 процедури, які проводилися з інтервалом в 7 днів. Кількість препарату використаного на весь курс склало 24 мл, на 1 процедуру для 2-х щелеп 8 мл.
- PRP- 3 процедури, інтервал введення - 7 днів. Кількість препарату на весь курс 18 мл, на 1 процедуру - 6 мл.
- PPP- 5 процедур, інтервал введення 7 днів. Кількість препарату на весь курс 30 мл, на 1 процедуру - 6 мл.

- i-PRF- 5 процедур, інтервал введення 7 днів. Кількість препарату на весь курс 30 мл, на 1 процедуру - 6 мл.

Введення всіх препаратів аутоплазми виконувалося ін'єкційно за допомогою мезотерапевтичної голки G30 по перехідній складці в проекції верхівок коренів зубів, доза препарату становила близько 0,2 мл на кожне введення.

Спосіб отримання аутомезокріолізату тромбоцитів людини (АМК)

Після забору крові пацієнта виконували її центрифугування, заморожування в рідкому азоті, розморожування. Кров пацієнта забирають з антикоагулянтом в співвідношенні 9:1, двічі центрифугують, при цьому після першого центрифугування плазму відокремлюють від еритроцитів і лейкоцитів, після другого— отримують на дні пробірки осад пулу тромбоцитів, який відділяють від "бідної" тромбоцитами плазми, далі осад пропускають через фільтр і при досягненні кількості близько 1×10^9 тромбоцитів / мл їх збирають в кріопробірки і заморожують в рідкому азоті при температурі $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ для отримання лізат-продукту, який містить фактори росту. Перед використанням отриманий лізат-продукт розморожують при температурі $+37^\circ\text{C}$, центрифугують в центрифугу Universal 320-R на 4000 об / хв, 7 хв, з повільною зупинкою при температурі $+25 \pm 2^\circ\text{C}$, видаляють фібрин, який випадає в осад. Серологічною піпеткою об'ємом 10 мл переносять необхідну кількість плазми (не зачіпаючи осад криоглобулинов) в пробірки з тромбоцитарним осадом. Пропіпетірували тромбоцитарний осад в плазмі, перенести цю суспензію в чисту пробірку на 50 мл. Промаркували. Далі поміщують пробірку в центрифугу Universal 320-R, врівноважують і центрифугують 3200 об / хв, 3 хв, з швидкою зупинкою при температурі $+25 \pm 2^\circ\text{C}$. Серологічною піпеткою об'ємом 5 мл перенесли препарат в віали (не зтягуючи осад). Стерильним пінцетом закривали віали гумовими кришками, потім алюмінієвими ковпачками і запечатували. Наклеювали наклейки і промарковували віали з препаратом, вказували термін зберігання. (Патент UA 112536 U). Для

виготовлення 24 мл (для всього курсу) препарату АМК необхідна кількість крові пацієнта складає 100 мл. Препарат виготовляється в умовах сертифікованої лабораторії Smart Cell, г. Одеса.

Спосіб отримання тромбоцитарної аутоплазми (PRP, PPP, i-PRF)

Отримували шляхом забору крові з вени пацієнта стерильним внутрішньовенним катетером у стерильну вакуумну пробірку (ММ Медик, Україна), що містить при PRP-розчин АСD-A, при PPP- гепарінат натрію і розділовий гель, при i-PRF в чисту пробірку без будь-яких домішок, які потім поміщали в центрифугу («ELMI», Прибалтика). Протоколи центрифугування при температурі $+ 22 \pm 2^{\circ}\text{C}$: для PRP - прискорення 500 G, час центрифугування 5 хв, для PPP - 3000 оборотів протягом 5 хвилин, для i-PRF- 1000 G, 5 хв. Після цього в пробірках отримували чіткий поділ на дві фракції: верхня – тромбоцитарна аутоплазма, нижня – еритроцитарний згусток (рис.2.10). Кількість крові пацієнта необхідне для виготовлення препаратів на весь курс: PRP – 51 мл, PPP – 85 мл, i-PRF – 60 мл. Препарати можуть бути виготовлені в будь-якому медичному закладі відповідному санітарним нормам для проведення хірургічних втручань.

Контроль результатів проведеного пародонтологічного лікування проводили в наступні терміни після закінчення лікування: через 1 місяць, через 6 місяців, через 1 рік і через 2 роки. Також, кожні 6 місяців хворим всіх груп була проведена професійна гігієна. Всі хворі дали письмову згоду на проведення лікування за вказаними схемами, відповідно до вимог комісії з біоетики ГУ ІСЧЛХ НАМН України.



Рис. 2.10. - Пробірка з
тромбоцитарною аутоплазмою

Схема застосування плазмогелю, гелю гіалуронової кислоти та i-PRF в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту

В комплексне лікування пацієнтів включали консервативні методики плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми 3 процедури з інтервалом кожні 7 днів і одноразова інстиляція препарату ГК, а також плазмогель з інтервалом кожні 7 днів, одноразове введення препарату ГК і кожні 6 місяців у вигляді підтримуючої терапії ін'єкційне введення i-PRF по 5 процедур з інтервалом кожні 7 днів.

Схема виготовлення препарату плазмогель

Плазмогель отримували з тромбоцитарної аутоплазми. Яку отримували шляхом забору крові з вени пацієнта стерильним внутрішньовенним катетером у стерильну вакуумну пробірку (ММ Медик, Україна), пробірку що містить гепарінат натрію і роздільний гель, потім поміщали в центрифугу («ELMI», Прибалтика). Протокол центрифугування при температурі $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 3000 оборотів протягом 5 хвилин. Фракцію плазми після центрифугування відбирали з пробірки шприцом, який поміщали в термостат TDB-120 для приготування плазмогеля, при температурі $+ 80^{\circ}\text{C}$ протягом 7 хвилин, охолоджували при

кімнатній температурі протягом 10 хвилин і за допомогою тупої голки вводили в пародонтальні кишені, після чого накладали пародонтальну пов'язку Reso-Pac.

2.4.2 Хірургічні методи регенеративної методики з використанням комбінації плазми збагаченої тромбоцитами та препарату гіалуронової кислоти.

Для проведення хірургічного лікування ГП II-III ступеня важкості, хронічного перебігу в клініці було відібрано 35 пацієнтів. Першу групу (основну) склали 18 пацієнтів з ГП, хірургічне лікування яких проводилось по запропонованій нами методиці. В контрольну групу увійшли 17 пацієнтів, лікування яких відбувалось по загальноприйнятому протоколу. Протоколи дослідження затверджено на засіданні комісії з Біоетики ДУ «ІСЦЛХ НАМН України».

Критеріями включення були: діагноз генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II-III ступеню важкості (далі по тексті як хронічний генералізований пародонтит), глибина пародонтальних кишень більше 5,5 мм, вік пацієнтів 35-55 років, відсутність важкої соматичної патології. Критеріями виключення були: пацієнти з важкою соматичною патологією, пацієнти віком до 35 років, пацієнти у яких глибина пародонтальних кишень становила менше ніж 5,5 мм.

Перед хірургічним втручанням всі пацієнти проходили передопераційну підготовку. Яка включала: за 2 дні до операції пацієнти отримували курс антибіотикотерапії (аугментин по 875/125 мг 2 рази на добу, курсом на 7 днів), антигістамінний препарат Кларитин (по 1 таблетці, 1 раз на добу, 7 днів). Для регулювання рівноваги мікробіоти ротової порожнини та шлунково-кишкового тракту пробіотики БіоГая Продентіс по 1 пастилки, 1 раз на день, на протязі 30 днів.

Хірургічне втручання у хворих обох груп проводили з використанням методу направленої регенерації кісткової тканини. Під інфільтраційною анестезією з вестибулярної та оральної сторони ясен проводився горизонтальний розріз по верхівкам міжзубних сосочки, зберігаючи конфігурацію

ясеневого краю. По краям ділянки операції виконували 2 вертикальні розрізи до кістки, які йшли від краю ясен по напрямленню до перехідної складки. Слизово-надокістні клапті відшаровували распатерем з вестибулярної та оральної поверхні. Ножицями проводили деепітелізацію тканин. Після чого пародонтальними кюретами та ультразвуковими насадками для скалеру LM (Фінляндія) проводили ревізію поверхні коренів зубів і пародонтального дефекту. Згладжування поверхонь виконували з максимальним збереженням здорової кісткової тканини. Антисептична обробка операційного поля проводилась стерильним розчином 0,12% хлоргексидину. Після чого пацієнтам групи порівняння кісткові дефекти заповнювали остеопластичним остеокондуктивним матеріалом Cerabone (Botiss, Німеччина). Поверх відновленого пародонтального дефекту у пацієнтів групи порівняння використовували колагенову мембрану Jason (Botiss, Німеччина).

В основній групі поверхні оголених коренів обробляли препаратом ПрефГель (Straumann, Швейцарія), після чого промивали пародонтальний дефект фізіологічним розчином, кісткові дефекти заповнювали остеопластичним матеріалом Cerabone (Botiss, Німеччина) змішаним з препаратом гіалуронової кислоти hyaDENT BG, поверх пародонтального дефекту вкладали колагенову мембрану Jason (Botiss, Німеччина) оброблену з обох поверхонь PRP та препаратом гіалуронової кислоти.

Препарат гелю з гіалуроновою кислотою

Препарат hyaDENT BG, гель в'язко еластичний на основі гіалуронової кислоти, до складу якого входять: гіалуронова кислота - 2 мг, крос-пов'язана гіалуронова кислота -16 мг, натрію хлорид - 6,9 мг і вода для ін'єкцій до -1,0 мг. Виробник: BioScience GmbH, Німеччина (сертифікат відповідності № UA.TR.039.343, дата видачі - 18.04.2018 р.).

В обох групах мембрани розташовували так, щоб вони перекривали дефект на 2-3 мм від краю кістки, щільно прилягали до поверхні коренів. Після чого адаптували клапті на місце та виконували ушивання в міжзубному проміжку.

В післяопераційному періоді всім пацієнтам призначали щадну дієту, за необхідністю анальгетики, антисептична обробка ротової порожнини тричі на день розчином хлоргексидину 0,12 %. Шви знімали на 7-10 добу після хірургічного втручання.

2.5 Рентгенологічні дослідження

2.5.1 Рентгенологічні методи дослідження в експерименті.

Рентгенографія виділеної нижньої щелепи виконувалася після виведення тварини з експерименту. Рентгенологічне дослідження нижньощелепної кістки виконували портативним стоматологічним рентгенапаратом DIGIMED DIOX 602 (DigiMed, Південна Корея).

2.5.2 Рентгенологічне обстеження пацієнтів.

Для уточнення діагнозу проводилося рентгенологічне дослідження - ортопантомографію, яка виконувалась на цифровому панорамному рентгенологічному апараті «ORTHOPOS XG» (SIRONA Dental Systems GmbH, Німеччина).

За допомогою рентгенологічного дослідження оцінювали анатомічні особливості зубощелепного апарату, стан зубів і періапикальних тканин, наявність або відсутність міжзубних перегородок, структуру кортикальної пластинки і губчастої кістки, а також ступінь атрофії кісткової тканини верхньої і нижньої щелеп.

2.6 Функціональні методи дослідження

Діагностику мікрогемодинамічних змін в тканинах пародонта проводили методом ультразвукової доплерографії (УЗДГ) за допомогою комп'ютеризованого ультразвукового доплерографа для дослідження кровотоку «Мінімакс-Допплер-К» модель НБ (ТОВ «СП-Мінімакс», Росія). Дослідження проведені на базі інституту естетичної медицини Віртус, м.Одеса, Україна.

Метод УЗДГ заснований на ефекті Доплера, який реєструє зміну частоти відбитого ультразвукового сигналу від рухомих частинок (еритроцитів) на величину, пропорційну швидкості їх руху, і визначається формулою 2.4:

$$V = F_d \times C / 2F_g \cos \alpha \quad (2.4)$$

V - швидкість потоку формених елементів в судині;

F_d - доплерівський зсув частоти;

F_g - частота генератора;

C - швидкість поширення УЗ в середовищі 1540 м / с;

α - кут між віссю потоку і віссю відбитого ультразвукового променя.

Якісна оцінка доплерограмм складається з візуальної та акустичної картин. Візуальним відображенням доплерівського сигналу є доплерівський спектр, який в процесі швидкого перетворення Фур'є розкладається по інтенсивності в залежності від швидкості потоку крові. Крива спектру відображає профіль швидкості потоку в кожен момент часу з виділенням середнього значення швидкості.

Амплітуда коливань відповідає швидкості руху еритроцитів всередині судин: чим більше швидкість, тим далі від ізолінії знаходиться точка спектра. Найшвидші частки розташовуються в центрі судин, більш повільний кровотік ближче до стінок. Таким чином, верхня частина спектра описує центральний потік, а нижня частина спектра - пристінкові області. Лінія, що розділяє верхню і нижню частини колірної шкали, називається ізолінією, що відповідає нульової швидкості.

Характер кровотоку постійно мінливий: елементи крові рухаються з різними швидкостями і в різних напрямках. Відповідно, швидкість кровотоку також величина непостійна, характеристику якої визначають показниками лінійної та об'ємної швидкості кровотоку. Кольорове кодування допомагає розрізнити частинки, які рухаються у напрямку датчика (розташовуються в верхньої частини від ізолінії) або від нього (розташовуються в нижній частині від ізолінії).

Переважний тип кровотоку в досліджуваній області визначається на підставі візуальної картини і акустичного сигналу. Акустична картина артеріального відділу мікросудинного русла характеризується тихим пульсуючим шумом, що нагадує биття серця. Візуальний сигнал має чіткий малюнок з чергуванням систолічних і діастолічних піків.

При отриманні сигналу від мікросудин венолярного типу звукову картину можна порівняти з «шумом морського прибою». При візуальній оцінці доплерограмми звертали увагу на рівномірність пофарбованого спектра і відсутність гострих піків.

При озвучуванні судин капілярного типу звуковий сигнал має тихий шурхотний тон. Крива візуального сигналу була монофазна.

Обробку отриманих даних проводили автоматично програмним забезпеченням «Мінімакс-Допплер-К версія 2.1», яке аналізувало ділянку доплерограмми без артефактів. Кількісну оцінку доплерограмм проводили на підставі аналізу форм огинаючого спектра з визначенням наступних показників.

Лінійні швидкості кровотоку (см / сек):

V_{as} - максимальна систолічна швидкість кровотоку по кривій середньої швидкості;

V_{am} - середня лінійна швидкість кровотоку по кривій середньої швидкості;

Об'ємні швидкості кровотоку (мл / сек):

Q_{as} - систолічна об'ємна швидкість по кривій середньої швидкості;

Q_{am} - середня об'ємна швидкість по кривій середньої швидкості;

Індекси (перф.ед.):

PI - індекс пульсації (Гослінга), відображає пружно-еластичні властивості артерій і знижується з віком;

RI - індекс опору (Пурсело) кровотоку дистальніше місця вимірювання.

Для отримання якісного сигналу застосовували контактне середовище - акустичний гель. Максимальний по звуку і амплітудою сигнал отримували шляхом зміни кута нахилу датчика ($\approx 60^\circ$). Діагностика проводилася високочастотним ультразвуковим датчиком 25 МГц на глибину до 5 мм.

Дослідження гемодинаміки мікроциркуляторного русла пародонта проводили по 6 точках в області вільних ясен жувальних і фронтальних зубів верхньої і нижньої щелеп (1.6-1.5, 2.1, 2.5-2.6, 3.6-3.5, 4.1, 4.5-4.6) без тиску на датчик. Контроль адекватного зняття доплерограми проводили акустичним і візуальним сигналами.

2.7 Біохімічні дослідження

2.7.1 Біохімічні дослідження ясен, сироватки крові та кісткової тканини нижньої щелепи щурів.

Дослідження виконані у лабораторії біохімії ДУ «ІСЦЛХ НАМН» (зав. лаб. – д.біол.н., проф. Макаренко О.А.).

Біохімічні дослідження проводили в надосадовій рідині гомогенатів тканин ясен, альвеолярного відростка та сироватці крові експериментальних тварин.

У сироватці крові щурів визначали активності еластази, каталази, аланін-амінотрансферази (АлАТ), аспартат-амінотрансферази (АСТ), лужної фосфатази та вміст малонового діальдегіду (МДА). Біохімічні показники в гомогенатах кістки нижньої щелепи щурів включали аналіз активності лужної фосфатази, кислої фосфатази, вміст кальцію і фосфору. Біохімічні показники в яснах щурів включали аналіз ЗПА, інгібітору трипсину, активності еластази, каталази і вміст гіалуронової кислоти та МДА.

Активність ферментів аспартат-амінотрансферази (АсАТ) і аланін-амінотрансферази (АлАТ) визначали за методом Райтмана та Френкеля [291] та виражали в мкмоль піровиноградної кислоти на 1 мл сироватки крові.

Загальну протеолітичну активність (ЗПА) визначали за гідролізом казеїну [292]. ЗПА виражали в нкат/лсироватки або мккат/кг тканини. За 1 катал приймали активність ферментів, здатну каталізувати утворення 1 моля тирозину за 1 секунду.

Активність еластази визначали за гідролізом субстрату БОК-L – аланіну – п-нітрофенілового ефіру з утворенням нітрофенолу, який має жовте забарвлення [293]. Активність еластази виражали в мккат/л сироватки. За 1 катал приймали активність ферментів, здатну каталізувати утворення 1 моля нітрофенолу за 1 секунду.

Вміст інгібітору трипсину (ІТ) визначали за методом [294], оснований на здатності непов'язаного з інгібітором трипсину розщеплювати казеїн до амінокислот і олігопептидів, кількість яких визначають за допомогою реактиву Фоліна. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна вмісту інгібітора трипсину в пробі, концентрацію якого виражали в грамах інактивованого трипсину на 1 л сироватки.

Активність лужної фосфатази (ЛФ) та кислої фосфатази (КФ) визначали за методом Бессея в модифікації А.П. Левицького [295], за допомогою розчину нітрофенілфосфау натрію, який під дією фосфатаз гідролізуються до розчину нітрофенолу жовтого кольору. Також за цим методом визначали активність ЛФ з виділенням кісткового ізоферменту ЛФ методом теплової денатурації [296]. Активність ЛФ і КФ виражали в мккат/л сироватки. За 1 катал брали активність ферментів, здатну каталізувати утворення 1 моля розчину нітрофенолу.

Ступінь перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові та тканинах ясен оцінювали за рівнем малонового діальдегіду (МДА). Вміст МДА визначали за допомогою реакції з тіабарбітуровою кислотою [297]. Вміст МДА виражали в мкмольх/л сироватки або ммольх/кг тканини.

Про стан антиоксидантної системи (АОС) судили за активністю каталази. Активність каталази визначали за допомогою молібдата амонію за методом М.А. Королюк, Л.І. Іванової [298]. Активність ферменту виражали в мкат/л сироватки або мкат/кг тканини.

Для визначення кальцію і неорганічного фосфату в альвеолярній кістці до 50 мг кісткової тканини додавали 2 мл 0,2 N розчину HCl і екстрагувати протягом 24 годин. Одержаний екстракт фільтрували, кілька разів промивали 0,1 N розчином HCl, кількісно переносили в мірну колбу на 25 мл і доводили

об'єм 0,1 N розчином HCl. Кальцій в зразку реагує з Арсеназо III, утворюючи забарвлений комплекс, який можна виміряти спектрофотометрично. Концентрацію кальцію визначали в ммоль/кг.

Неорганічний фосфат утворює із молібденовою кислотою, у сильно кислому середовищі, фосфомолібденову кислоту, яка відновлюється в присутності залаза (II) у молібденову синь. Білки, які осаджуються індикаторним реагентом, розчиняються при додаванні стабілізатора – тристаноламіну. Оптична щільність реакційного розчину пропорційна концентрації неорганічного фосфору в пробі. Концентрацію фосфору визначали в ммоль/кг [299].

2.7.2 Біохімічні дослідження ротової рідини.

Дослідження виконані в лабораторії біохімії ДУ «ІСЦЛХ НАМН» (зав. лаб. – д.біол.н., проф. Макаренко О.А.).

Об'єктом дослідження була обрана змішана нестимульована ротова рідина хворих з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеню важкості. Ротову рідину збирали по методиці [300] і заморожували до дослідження. У слині визначали активність лізоциму бактеріолітичним методом [301], уреазу – за допомогою реактиву Несслера [302], каталази - молібдатним методом [303], загальну протеолітичну активність (ЗПА) казеїнолітичним методом [292], вміст гіалуронової кислоти [304] і концентрацію малонового діальдегіду (МДА) за допомогою тіобарбітурової кислоти [297]. На підставі результатів визначення відносних активностей уреазу та лізоциму розраховували ступінь дисбіозу порожнини рота по методу А.П. Левицького та співавт. [305]. За співвідношенням активності каталази та концентрації МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) [306], який розраховували за формулою 2.5:

$$\text{АПІ} = \frac{A_{\text{кат}}}{C_{\text{мда}}} \times 10 \quad (2.5)$$

Активність лужної (ЛФ) і кислої (КФ) фосфатаз визначали по методу Бессі в модифікації Левицького та ін. [295] по гідролізу р-нітрофенілфосфата.

2.8 Морфометричні методи дослідження

Морфометричні дослідження включали визначення ступеня атрофії альвеолярного відростка щелеп методом А.В. Ніколаєвої [307]. Для цього на на скелетованих нижніх щелепах щурів після механічного видалення м'яких тканин методом біометрії визначали лінійні розміри оголення коренів молярів. Вимірювання кожного кореня проводили на язиковій поверхні зубів за допомогою бінокулярної лупи МБС-1 (окуляр зі шкалою розподілу 0,05 мм). Визначали величину К – відносне оголення коренів молярів, виражену у відсотках за формулою 2.6:

$$K = \frac{\Delta 1}{1} \times 100, \quad (2.6)$$

де $\Delta 1$ – відстань від краю зубної альвеоли до нижнього краю коронкової частини зуба, 1 - відстань від краю зубної альвеоли до верхнього краю коронки зуба.

2.9 Морфологічні методи дослідження

Морфологічні дослідження проводились на кафедрі клінічної анатомії Тбіліського державного медичного університету, м. Тбілісі, Грузія.

Об'єктом дослідження служили шматочки тканини нормальної і децелюляризованої амніотичної мембрани людини, слизова альвеолярного відростка з штучно створеним дефектом, кісткова тканина нижньої щелепи з штучно створеним дефектом, а також кісткова тканина з дефектом кістки покритим ДАМ, ДАМ + PRP, ДАМ + PRP + ГК.

Посічені тканини нормальної і децелюляризованої амніотичної мембрани людини поміщали в 10 % розчин формаліну, потім заливали в парафінові блоки

і готували зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином і по Ван-Гізону.

Кісткова тканина нижньої щелепи з штучно створеним дефектом, а також з ДАМ, ДАМ + PRP, ДАМ + PRP + ГК фіксували в 4 % розчині параформальдегіду на фосфатному буфері (рН 7,4) не менше 24 годин. Після чого фрагменти кістки декальциновані в розчині «Біодек R» (Bio Optica Milano, Італія) протягом 24 годин. Далі весь матеріал збезводнювали в серії етанолу зростаючої концентрації, просвітлювати в ксилолі та укладали в парафінові блоки. Зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином та Масон-Тріхромом. Візуалізацію мікропрепаратів проводили на світловому мікроскопі (Олімпус, Японія).

Для морфологічного дослідження забирали біоптати ясен та щелепної кістки та фіксували їх в 10 % нейтральному формаліні. Потім проводили стандартну обробку тканини для заливки в парафін, готували зрізи, фарбували їх по Маллорі, по Масону, гематоксиліном і еозином, досліджували під мікроскопом зі збільшенням окуляр x10, об'єктив x10, збільшення x100, x200 і x400. Фарбування по Маллорі використовується для дослідження волокнистих структур сполучної тканини, використовуються три барвника: аніліновий синій, кислий фуксин і помаранчевий. Метод заснований на унікальній властивості анілінового синього фарбувати волокна колагену в зеленувато-синій колір, а кислого фуксину – в червоний колір. В результаті фарбування волокна колагену фарбуються в темно-синій колір, ядра клітин - в оранжево-червоний і т. п.; Метод, запропонований Ф. Маллорі в 1900 році. Фарбування гематоксиліном і еозином – оглядове фарбування тканин [308].

2.10 Метод кількісної оцінки новоутворених судин

Для кількісної оцінки новоутворених судин на 3, 7, 14 і 30 день після моделювання і проведення лікування були обрані по 10 тварин з III і V серій для рентгенконтрастних методів дослідження і методу трансілюмінації. Для проведення рентгенконтрастних методів дослідження у тварин ($n = 5$) в умовах загальної анестезії виділяли загальну сонну артерію, яку промивали 0,9% фізіологічним розчином з гепарином, після чого вводили рентгенконтрастну речовину (кардіотраст) одночасно піддаючи тварин рентгенологічному дослідженню. Для проведення методу трансілюмінації у тварин ($n = 5$) в умовах загальної анестезії виділяли загальну сонну артерію і яремну вену. Після промивання загальної сонної артерії 0,9% фізіологічним розчином з гепарином вводили латекс (NAIRIT-L3, Вірменія), пофарбований в червоний колір, а в яремну вену латекс пофарбований в синій колір. Після цього слизова альвеолярного відростка висікалась разом з навколишніми тканинами і розташовувалась між двома предметними скельцями, які фіксувалися пластирем. Для кількісної оцінки новостворених судин в області дефекту використовували метод трансілюмінації, просвічуючи об'єкти в світлі з використанням мікроскопа MBS-9 (Росія) [309].

2.11 Статистичні методи досліджень

Отримані цифрові дані піддавалися математичній обробці відповідно до мети і завдань кожного розділу роботи.

Обробку результатів проводили варіаційно-статистичними методами аналізу на персональному комп'ютері IBM PC в SPSS SigmaStat 3.0 і StatSoft Statistica 6.0 (2003 рік) за рекомендаціями [310].

Для кожної вибіркової сукупності спостережень (n) обчислювали середнє арифметичне значення (M), середнє квадратичне (стандартне) відхилення (S),

середню квадратичну похибку середнього значення (m), 95% -й довірчий інтервал справжнього середнього значення, використовуючи t -критерій Стьюдента. Розраховували рівень значущості відмінностей середніх значень показника в незалежних вибірках (p) по функції розподілу t -критерію Стьюдента: при $p < 0,05$ - різниця значимо; при $p > 0,05$ - відмінність незначимо.

РОЗДІЛ 3

СТАН ТКАНИН ПАРОДОНТА У ХВОРИХ З ГЕНЕРАЛІЗОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ II-III СТУПЕНЯ

Хронічний генералізований пародонтит належить до одного з найбільш поширених захворювань ротової порожнини. Розповсюдженість захворювань пародонта складає до 96 % у людей старше 35 років. Нами проведено клінічне обстеження пацієнтів на хронічний генералізований пародонтит II-III ступеню важкості, які знаходились на лікуванні у консультативно-поліклінічному відділенні ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України».

3.1 Клінічна характеристика пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості

У проведеному дослідженні взяли участь пацієнти з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості у віці від 35 до 55 років. У всіх пацієнтів, які входили в дослідження, відзначалося істотне зниження якості життя, обумовлене впливом стоматологічного здоров'я. За статеву складовою переважали жінки 58,46 %, кількість чоловіків становила 41,54 % (рис. 3.1).

При зборі анамнестичних даних було з'ясовано, що 52,5 % пацієнтів зверталися раніше за стоматологічною пародонтологічною допомогою і 61,3 % з них спостерігали поліпшення після проведеного пародонтологічного лікування в терміни від 1 тижня до 3 місяців. Тривалість симптомів хронічного генералізованого пародонтиту до 5 років виявлена у 67,2 % пацієнтів, від 5 до 10 років - 22,3 % і понад 10 років у 10,5 %.

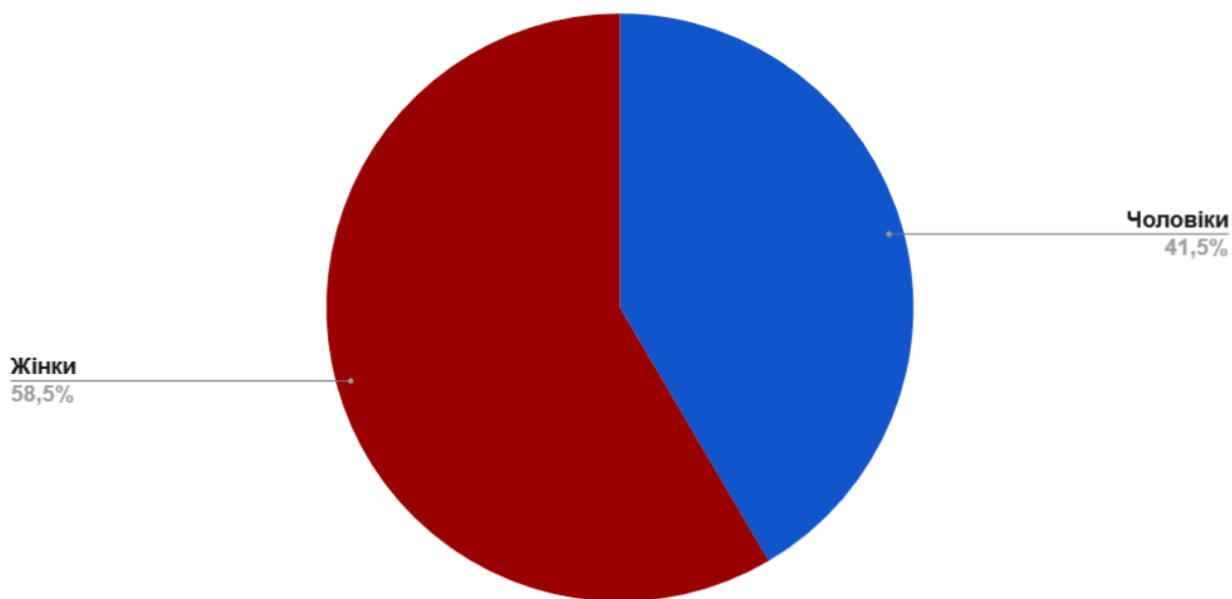


Рис. 3.1. Статевий склад пацієнтів, які взяли участь в дослідженні (%).

Клініко-рентгенологічна картина генералізованого пародонтиту складена на підставі аналізу клінічних, рентгенологічних, лабораторних та індексних показників, отриманих при обстеженні 260 пацієнтів з генералізованим пародонтитом хронічного перебігу, II-III ступеня важкості. Розподіл пародонтальних кишень в залежності від глибини представлено на рисунку 3.2.

З наведених даних видно, що тільки у 4,8 % обстежених хворих діагностовано глибину пародонтальних кишень 1 мм, у 25,3 % – 2 мм, у 30,1 % – 3 мм, у 16,9 % – 4 мм, у 10,4 % – 5 мм, 12,5 % – мають глибину пародонтальних кишень більше ніж 6 мм.

Отримані в ході дослідження дані вказують на нерівномірність ураження пародонтальних тканин, кругової зв'язки та альвеолярної кістки, що пов'язане з різною інтенсивністю розвитку генералізованого пародонтиту хронічного перебігу II-III ступеня важкості у обстежених осіб.

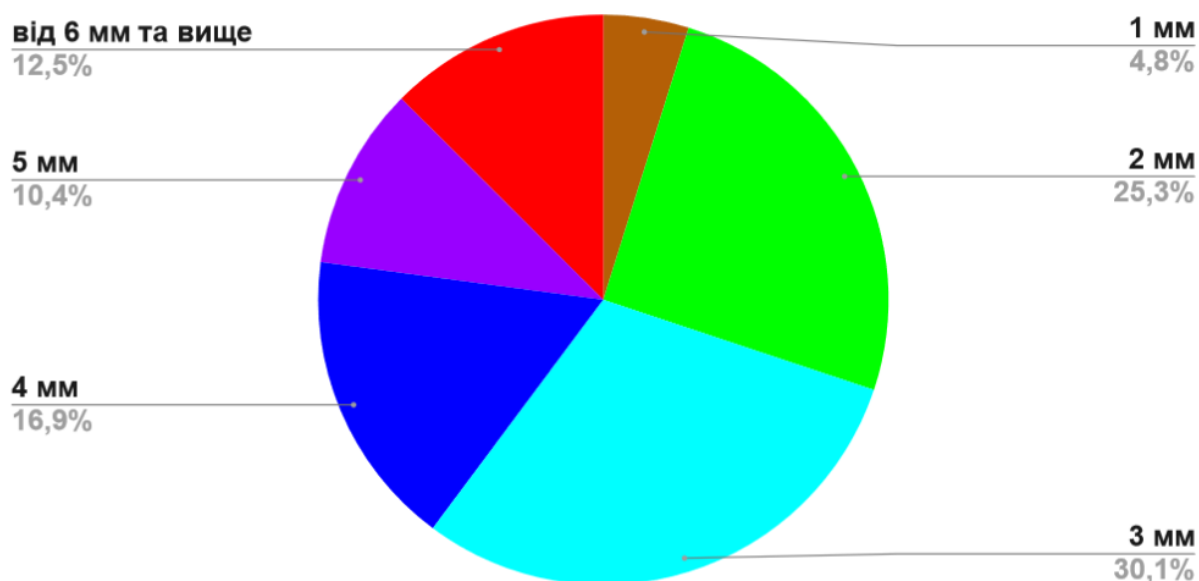


Рис. 3.2. Розподіл глибини пародонтальних кишень у відсотковому співвідношенні.

Показник глибини рецесії від загальної кількості вимірювань становив: 1 мм – 46,5 %, 2 мм – 32,0 %, 3 мм – 14,2 %, от 4 мм і вище 7,2 % (рис. 3.3).

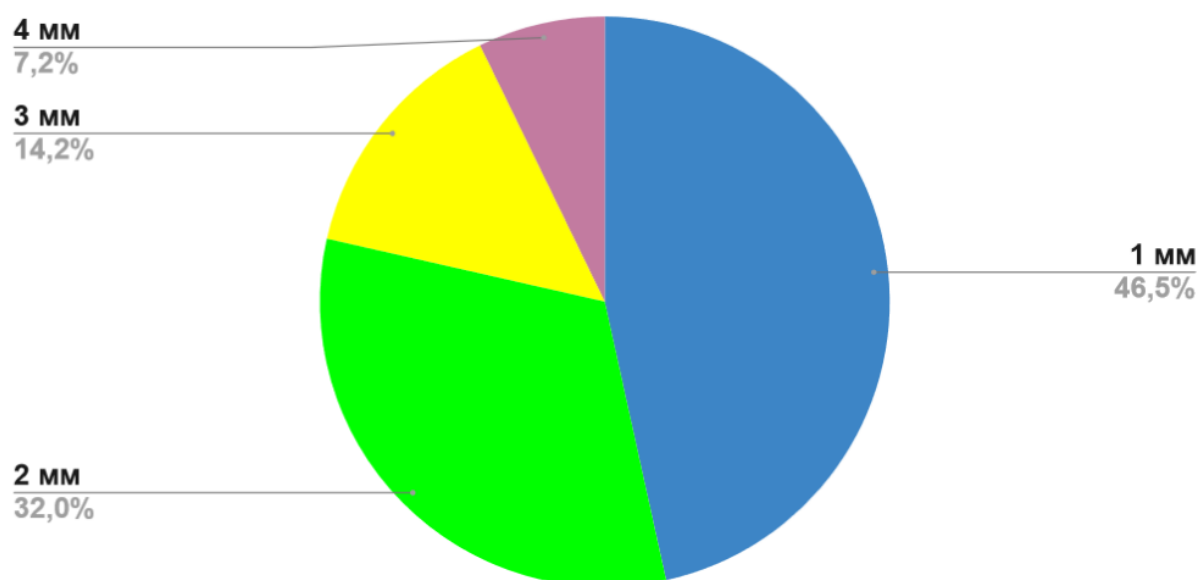


Рис. 3.3. Розподіл глибини рецесії у відсотковому співвідношенні.

На момент звернення з приводу лікування генералізованого пародонтиту частіше за все пацієнти вже мали якусь кількість видалених зубів. У відсотковому співвідношенні до загальної кількості зубів, відсоток видалених зубів складав 15,5 % (рис. 3.4).

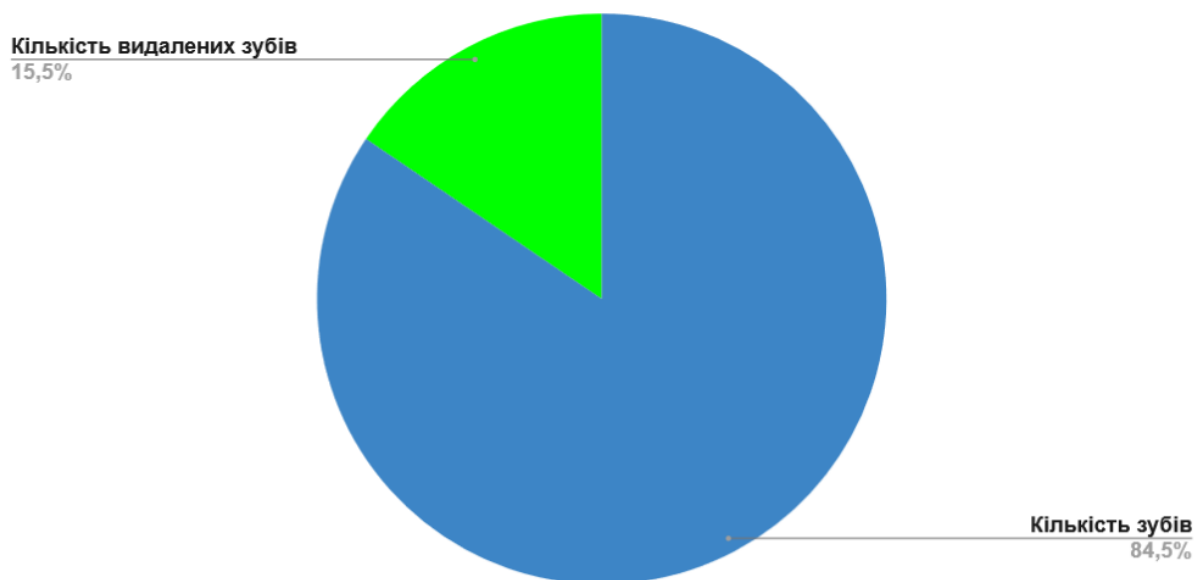


Рис. 3.4. Співвідношення видалених зубів, %.

При обстеженні хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу особливу увагу приділяли стану м'яких тканин ясен та деструктивним змінам в альвеолярній кістці. В ході проведення опитування пацієнтів виявлялися: скарги та їх характер, при яких обставинах вони з'являлися, виникали вони тимчасово або постійно і т.д. При зборі анамнезу захворювання звертали увагу на його тривалість, появу перших симптомів, чи проводилося раніше лікування з приводу даного захворювання, характер проведеного лікування, його обсяг (зі слів хворого) та результати (стійке поліпшення, тимчасове поліпшення, без поліпшення або погіршення).

У пацієнтів з генералізованим пародонтитом хронічного перебігу, II-III ступеня важкості були скарги на кровоточивість, при чищенні зубів і при

прийомі їжі (92 %), набряклість ясен, наявність зубних відкладень (100 %), чутливість шийок зубів від температурних і механічних подразників (43,75 %), неприємний запах з рота (89,75 %), оголення коренів зубів (52,7 %), рухливість зубів (42,5 %). При подальшому прогресуванні запально-дистрофічного процесу у пацієнтів додавались скарги на виділення з пародонтальних кишень (ексудація, гноетеча), зміна положення і втрата зубів.

З анамнезу з'ясовано, що початкові ознаки захворювання у $82,5 \pm 0,05$ % з'явилися три - п'ять років тому, кровоточивість поступово збільшувалася. При об'єктивному обстеженні пацієнтів визначалася пастозність та набряклість слизової оболонки ясенного краю, кровоточивість при зондуванні та наявність крайової рецесії, глибина пародонтальної кишені становила більше 5 мм, переважно з серозним виділенням, іноді, з гнійним. У всіх пацієнтів виявлялися над- і підясенні зубні відкладення, були оклюзійні порушення стану зубних рядів, тріси, діастеми.

Рівень гігієни за індексом гігієни О'Лірі до лікування у всіх обстежених був незадовільний і складав від $33,79 \pm 2,60$ % до $53,17 \pm 4,12$ %.

Індекс кровоточивості ВОР у пацієнтів до лікування становив від $19,90 \pm 1,20$ % до $63,71 \pm 6,37$ %.

3.2 Результати рентгенологічного методу обстеження

При рентгенологічному дослідженні у всіх пацієнтів виявлена деструкція кортикальної пластинки, а також резорбція міжальвеолярних перегородок за змішаним типом від $\frac{1}{3}$ до $\frac{1}{2}$ довжини коренів зубів верхньої і нижньої щелеп, що характеризує хронічний генералізований пародонтит II-III ступеня важкості (рис. 3.5)



Рис. 3.5. Ортопантомографія пацієнтки з діагнозом: генералізований пародонтит, хронічний перебіг, II-III ступеня важкості (іст. хвороби № 87.832)

3.3 Гемодинамічні зміни в тканинах пародонта у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості

За даними ультразвукової доплерографії у пацієнтів з генералізованим пародонтитом хронічного перебігу, II-III ступеня важкості спостерігалось зниження показників лінійних швидкостей кровотоку в мікросудинах пародонту: $V_{as} - 0,407 \pm 0,020$ см/сек., $V_{am} - 0,146 \pm 0,009$ см/сек.

Мікрогемодинамічні характеристики об'ємних швидкостей кровотоку мали мінімальні значення: $Q_{as} - 0,0141 \pm 0,0005$ мл/сек., $Q_{am} - 0,0007 \pm 0,00001$ мл/сек.

Настільки значні зміни в гемодинаміці кровотоку пародонта, відбуваються як на лінійній, так і на об'ємній швидкостях, пов'язані зі стазом в судинах мікроциркуляторного русла пародонту.

Зниження периферичного опору кровотоку в судинах мікроциркуляторного русла і зменшення пружно-еластичних властивостей судинних стінок мікроциркуляторного русла пародонта відображались в

зниженні значень індексів Гослінгу (PI) – $0,81 \pm 0,05$ і Пурсело (RI) – $0,635 \pm 0,033$.

Таким чином, по мірі прогресування запально-дистрофічного процесу в пародонті рівень гемодинаміки в тканинах ясен прогресивно знижується.

Клінічний приклад *Пацієнтка з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості.*

Виписка з історії хвороби № 99.915

Пацієнтка К., 46 років, жіночої статі, звернулася зі скаргами на кровоточивість ясен під час чищення зубів, біль в яснах і неприємний запах з рота, рухомість зубів, появу трем між зубами.

Об'єктивно: ясеневі сосочки та ясеневий край синюшно-пастозний, набряклий (Рис. 3.6). При зондуванні ясна кровоточать. Наявність великої кількості над-та під ясеневих зубних відкладень.

Глибина пародонтальних кишень 6-10 мм, рецесія ясен 2-3 мм, рухливість зубів I-II ступенів.

Проведено рентгенологічне дослідження. На рентгенограмі: резорбція кісткової тканини альвеолярного відростка на $\frac{1}{2}$ та на $\frac{2}{3}$ коренів зубів (Рис. 3.7).

Діагноз: Генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II-III ступеня.





Рис. 3.6. Макрофотографії ротової порожнини пацієнтки К. з діагнозом: генералізований пародонтит, хронічний перебіг, II-III ступеня важкості (іст. хвороби № 99.915)



Рис. 3.7. Ортопантомографія пацієнтки К. діагнозом: генералізований пародонтит, хронічний перебіг, II-III ступеня важкості (іст. хвороби № 99.915)

Резюме

Аналіз анамнестичних даних пацієнтів з хронічним генералізований пародонтит II-III ступеня важкості демонструє, що більше половини пацієнтів,

що входять в обстеження, раніше зверталися за стоматологічною допомогою маючи симптоми захворювань пародонта близько 5 років. Дані комплексного стоматологічного обстеження свідчать про наявності скарг пацієнтів на біль, кровоточивість ясен, рухливість зубів, гіперестезію, неприємний запах з рота, що проявляється високими показниками індексної оцінки, що відповідає хронічному генералізованому пародонтиту II-III ступеня важкості, і відбивається на істотному зниженні якості життя.

У більшості пацієнтів незадовільна гігієна порожнини рота пов'язана з відсутністю знань і мотивації до раціональної індивідуальної гігієни, а також виникненням кровоточивості і больових відчуттів в процесі чистки зубів.

На рентгенограмах пацієнтів з генералізованим пародонтитом II-III ступеня, хронічного перебігу діагностовано резорбцію міжальвеолярних перегородок за змішаним типом від $\frac{1}{3}$ до $\frac{1}{2}$ довжини коренів зубів верхньої і нижньої щелеп.

Ультразвукова доплерівська флоуметрія показала зниження показників лінійних швидкостей кровотоку та об'ємних швидкостей кровотоку в мікросудинах пародонта, зниження периферичного опору кровотоку в судинах мікроциркуляторного русла і зменшення пружно-еластичних властивостей судинних стінок мікроциркуляторного русла пародонта у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості, що пов'язано зі стазом в судинах мікроциркуляторного русла пародонта.

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНИХ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ПРЕПАРАТІВ АУТОПЛАЗМИ ТА ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ

Пародонтопротекторні ефекти впливу плазми, збагаченої тромбоцитарними факторами росту, були досліджені на «Перекисній» та «Лігатурній» моделях пародонтиту в умовах віварію. Експерименти проведені на 48 білих щурах, яким моделювали перекисну модель пародонтиту та на 50 щурах з лігатурною моделлю пародонтиту.

Ефективність лікування оцінювали по біохімічним показникам тканин ясен, сироватки крові та ступеню атрофії альвеолярного відростка в різні терміни спостереження.

Проведені раніш дослідження в ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН» свідчать, що дані моделі пародонтиту можуть бути запропоновані для встановлення ефективності лікувальних засобів та методів.

4.1 Вплив аутоплазми на тканини пародонта при ін'єкційному введенні в умовах моделювання пародонтиту у щурів

Як показали результати досліджень тривале (протягом 2-х місяців) моделювання пародонтиту з використанням перекисленої олії викликає у щурів появу клінічних симптомів запалення і деструкції тканин пародонта, а саме видиму гіперемію, набряклість і кровоточивість ясен, оголення шийок і рухливість зубів. При цьому відбуваються значні метаболічні порушення в тканинах пародонта та в організмі у цілому.

Отримані результати морфометричних досліджень щелеп лабораторних щурів підтверджують виражену остеотропну дію аутоплазми I-PRP (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Вплив препарату аутоплазми I-PRP на показник ступеню атрофії альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів ($M \pm m$)

Досліджувані групи	Ступінь атрофії альвеолярного відростка (%)	
	I термін	II термін
1. Інтактні щури + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	$32,6 \pm 0,3$	$31,8 \pm 0,9$ $p_2 > 0,4$
2. Модель пародонтиту + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	$37,9 \pm 1,2$ $p < 0,001$	$33,9 \pm 1,7$ $p > 0,3$ $p_2 < 0,05$
3. Модель пародонтиту + ін'єкції I-PRP, n = 14	$29,9 \pm 1,8$ $p > 0,2$ $p_1 < 0,002$	$29,0 \pm 1,5$ $p > 0,2$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,7$

Примітка: p - показник вірогідності відмінності інтактної групи; p_1 - вірогідність відмінностей від 2 групи; p_2 - вірогідність відмінностей між I та II термінами.

Переважання процесу формування кістки над процесом резорбції призвело до зниження ступеня атрофії альвеолярного відростка нижньої щелепи у щурів 3 групи в I терміні в 1,26 разів відносно щурів в групі з моделлю пародонтиту, $p_1 < 0,002$. Аналогічна ситуація відзначена і в II терміні спостереження зменшення атрофії в 1,16 разів, $p_1 < 0,05$ (див. табл. 4.1). Отримані дані свідчать про зниження темпу резорбції альвеолярної кістки після введення плазми I-PRP.

Біохімічні дослідження сироватки крові, ясен та кісткової тканини нижньої щелепи щурів представлені в таблицях 4.2, 4.3, 4.4, 4.5.

У сироватці крові у щурів 2 групи спостерігається підвищення еластазної активності, як у I терміні так і у II терміні в 1,33 рази ($p < 0,05$), вірогідне зростання рівня МДА у I терміні в 1,15 разів ($p > 0,2$) у II терміні в 1,58 разів ($p < 0,002$) і на тлі цього - тенденція до підвищення активності каталази у I терміні в 1,76 раз ($p < 0,001$), у II терміні в 1,3 рази ($p < 0,02$) (табл. 4.2).

У сироватці крові щурів 3 групи відразу після введення (I термін) в порівнянні з щурами 2 групи (модель пародонтиту) достовірно змінюється тільки активність каталази: знижується в 1,5 разів, що свідчить про недостатність функції антиоксидантної системи (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Вплив препарату аутоплазми I-PRP на біохімічні показники в сироватці крові щурів ($M \pm m$)

Досліджувальні групи	Активність еластази, мккат/л		Вміст МДА, ммоль/л		Активність каталази, мкат/л	
	I термін	II термін	I термін	II термін	I термін	II термін
1	2	3	4	5	6	7
1. Інтактні щури + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	227,2 ± 20,0	240,4 ± 18,5 $p_2 > 0,7$	0,71 ± 0,07	0,66 ± 0,02 $p_2 > 0,5$	0,17 ± 0,02	0,23 ± 0,02 $p_2 < 0,05$
2. Модель пародонтиту + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	302,5 ± 26,6 $p < 0,05$	320,1 ± 23,4 $p < 0,02$ $p_2 > 0,7$	0,82 ± 0,04 $p > 0,2$	1,04 ± 0,10 $p < 0,002$ $p_2 < 0,05$	0,30 ± 0,02 $p < 0,001$	0,30 ± 0,01 $p < 0,02$ $p_2 > 0,8$
3. Модель пародонтиту + ін'єкції I-PRP, n = 14	282,0 ± 28,7 $p > 0,1$ $p_1 > 0,6$	283,1 ± 17,1 $p > 0,2$ $p_1 > 0,25$ $p_2 > 0,8$	0,74 ± 0,05 $p > 0,6$ $p_1 > 0,2$	0,74 ± 0,04 $p > 0,1$ $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,8$	0,20 ± 0,03 $p > 0,4$ $p_1 < 0,001$	0,18 ± 0,04 $p > 0,25$ $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,7$

Примітка: p - показник вірогідності відмінності інтактної групи; p_1 - вірогідність відмінностей від 2 групи; p_2 - вірогідність відмінностей між I та II термінами.

Встановлено також, що під дією плазми I-PRP не відбуваються зміни активності ферментів АЛАТ і АСТ, що характеризують функцію печінки, це свідчить про хорошу переносимість введення плазми і відсутність шкідливого впливу на організм (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Вплив препарата аутоплазми I-PRP на біохімічні показники в сироватці крові щурів ($M \pm m$)

Досліджувальні групи	Активність АЛАТ, мккат / л		Активність АСТ, мккат / л		Активність ЛФ, мккат /л	
	I термін	II термін	I термін	II термін	I термін	II термін
1	2	3	4	5	6	7
1. Інтактні щури + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	$0,58 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,04$ $p_2 > 0,5$	$0,78 \pm 0,04$	$0,78 \pm 0,05$ $p_2 > 0,8$	$2,68 \pm 0,41$	$3,28 \pm 0,32$ $p_2 > 0,25$
2. Модель пародонтиту + ін'єкції фіз.р ну, n = 10	$0,53 \pm 0,04$ $p > 0,4$	$0,52 \pm 0,06$ $p > 0,7$ $p_2 > 0,8$	$0,83 \pm 0,05$ $p > 0,6$	$0,90 \pm 0,06$ $p > 0,2$ $p_2 > 0,4$	$1,46 \pm 0,12$ $p < 0,01$	$3,44 \pm 0,45$ $p > 0,8$ $p_2 < 0,001$
3. Модель пародонтиту + ін'єкції I-PRP, n = 14	$0,56 \pm 0,09$ $p > 0,5$ $p_1 > 0,4$	$0,58 \pm 0,04$ $p > 0,5$ $p_1 > 0,4$ $p_2 > 0,7$	$0,78 \pm 0,07$ $p > 0,8$ $p_1 > 0,6$	$0,70 \pm 0,02$ $p > 0,2$ $p_1 < 0,002$ $p_2 > 0,3$	$2,42 \pm 0,57$ P_2-4 $=0,073$	$3,31 \pm 0,23$ $p > 0,8$ $p_1 > 0,7$ $p_2 > 0,2$

Примітка: р - показник вірогідності відмінності інтактної групи;
 p_1 - вірогідність відмінностей від 2 групи; p_2 - вірогідність відмінностей між I та II термінами.

Моделювання пародонтиту призвело до достовірного підвищення еластазної активності в яснах щурів 2-ї групи в порівнянні з інтактними тваринами в I терміні збільшувалась в 1,5 рази ($p < 0,001$), у II терміні в 1,36 разів ($p < 0,02$) і зростання концентрації МДА в I терміні в 1,3 рази ($p < 0,05$), у II терміні в 1,43 рази ($p < 0,01$), що вказує на наявність хронічного запалення в тканинах пародонта і посилення процесу перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Вплив препарата аутоплазми I-PRP на біохімічні показники в яснах щурів ($M \pm m$)

Досліджувальні групи	Активність еластази, нкат/кг		Вміст МДА, ммоль/кг		Активність каталази, мкат/кг		Вміст гіалуронової кислоти, мг/кг	
	I термін	II термін	I термін	II термін	I термін	II термін	I термін	II термін
1. Інтактні щури + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	$0,042 \pm 0,002$	$0,042 \pm 0,004$ $p_2 > 0,8$	$10,85 \pm 1,13$	$10,38 \pm 1,08$ $p_2 > 0,7$	$7,67 \pm 0,24$	$6,94 \pm 0,33$ $p_2 > 0,1$	$455,0 \pm 38,5$	$431,0 \pm 12,37$ $p_2 > 0,6$
2. Модель пародонтиту + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	$0,063 \pm 0,004$ $p < 0,001$	$0,057 \pm 0,004$ $p < 0,02$	$14,23 \pm 1,33$ $p < 0,05$	$14,89 \pm 0,93$ $p < 0,01$	$7,27 \pm 0,91$ $p > 0,7$	$5,83 \pm 0,67$ $p > 0,2$	$460,0 \pm 43,9$ $p > 0,8$	$447,6 \pm 31,3$ $p > 0,7$
3. Модель пародонтиту + ін'єкції I-PRP, n = 14	$0,062 \pm 0,004$ $p < 0,001$ $p_1 > 0,8$	$0,052 \pm 0,005$ $p > 0,2$ $p_1 > 0,4$ $p_2 > 0,2$	$16,77 \pm 0,56$ $p < 0,001$ $p_1 > 0,1$	$12,29 \pm 0,83$ $p > 0,2$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	$8,90 \pm 0,98$ $p_2 > 0,25$ $p_1 > 0,25$	$6,82 \pm 0,36$ $p < 0,8$ $p_1 > 0,2$ $p_2 < 0,05$	$841,9 \pm 42,6$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$673,7 \pm 53,1$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,02$

Примітка: p - показник вірогідності відмінності інтактної групи; p_1 - вірогідність відмінностей від 2 групи;

p_2 - вірогідність відмінностей між I та II термінами.

Як показали проведені дослідження введення плазми I-PRP в ясна відразу ж викликає активізацію метаболічних процесів в тканинах. Так, в I терміні у щурів 3 групи відзначається виражена тенденція до підвищення рівня МДА (з $14,23 \pm 1,33$ ммоль / кг до $16,77 \pm 0,56$ ммоль / кг), до підвищення активності каталази і вірогідно збільшується вміст гіалуронової кислоти (з $460,0 \pm 43,9$ мг / кг до $841,9 \pm 132,2$ мг / кг, $p < 0,001$) в яснах в порівнянні з показниками у щурів 2 групи (модель пародонтиту). При цьому еластазна активність в яснах не змінюється (див. табл. 4.4).

При моделюванні пародонтиту з використанням «перекисної» моделі на тлі введення щурам фізіологічного розчину не виявлено суттєвих відмінностей між показниками активності каталази і вмісту гіалуронової кислоти в яснах щурів 1-ої і 2-ої групи (див. табл. 4.4).

У II терміні - через 3 тижні після другого введення плазми I-PRP - у щурів 3 групи відзначається виражена тенденція до зниження рівня МДА в 1,2 рази в яснах в порівнянні з показниками у щурів 2 групи (модель пародонтиту). При цьому рівень МДА у щурів 3 групи в сироватці крові в II терміні при порівнянні з I терміном стає в 1,4 рази нижче $p_2 < 0,001$, активність каталази в яснах у щурів збільшується в 1,3 рази порівняно з щурами 3 групи в I терміні $p_2 < 0,05$ (див. табл. 4.2, 4.4).

У сироватці крові щурів 3 групи в II терміні після введення I-PRP в порівнянні з щурами 2 групи (модель пародонтиту) також відзначається достовірне зниження рівня МДА в 1,4 рази (з $1,04 \pm 0,10$ ммоль/л до $0,74 \pm 0,04$ ммоль/л, $p_1 < 0,01$) і активності каталази в 1,6 разів (з $0,30 \pm 0,02$ мкат/л до $0,18 \pm 0,04$ мкат / л, $p_1 < 0,01$), що свідчить про нормалізацію процесів в системі ПОЛ -АОС (див. табл. 4.2).

Як і раніше в II терміні у щурів в тканинах ясен залишається високим вміст гіалуронової кислоти ($673,7 \pm 63,1$ мг / кг), що в 1,5 разів вище при порівнянні з 2 групою (модель пародонтиту), $p_1 < 0,002$ (див. табл. 4.4). Стає

очевидним, що I-PRP справляє позитивний вплив на сполучну тканину, покращуючи її структурообразуючі властивості.

Плазма I-PRP не викликає значущих змін показників активності еластази в яснах і сироватці крові щурів в обидва терміни спостереження, на підставі чого можна судити про відсутність її прямої протидії запальній дії.

Найбільш цікаві дані отримані при аналізі впливу плазми I-PRP на кісткову тканину нижньої щелепи щурів. Результати вивчення впливу аутологічної плазми крові на тканини пародонту і процес ремоделювання кісткової тканини щелеп в експерименті у щурів при ін'єкційному введенні плазми I-PRP представлені в таблиці 4.5.

Встановлено, що дворазове ін'єкційне введення плазми, збагаченої тромбоцитами, щурам з експериментальним пародонтитом призвело до активації процесу ремоделювання кістки, про що свідчить вірогідне підвищення активності ЛФ в 1,8 – 2 рази у щелепній кістці в обидва терміни спостереження (в I терміні з $36,67 \pm 1,84$ мккат /кг в 2 групі до $73,94 \pm 5,37$ мккат/кг в 3 групі, $p_1 < 0,001$, і в II терміні з $43,05 \pm 6,42$ мккат / кг в 2 групі до $79,19 \pm 4,97$ мккат/кг в 3 групі, $p < 0,001$).

Необхідно відзначити стійку післядію I-PRP, яка полягає в підвищенні функціональної активності остеобластів протягом 3-х тижнів після введення плазми. При цьому підтримується висока активність остеокластів (за активністю КФ), особливо в I терміні (відразу після введення плазми), що є необхідною умовою процесу ремоделювання кістки і реалізується через систему регуляторних білків RANKL-RANK-OPG [311]. Значне підвищення активності ЛФ в кістковій тканині, обумовлює і вірогідне збільшення концентрації фосфору в кістки в II терміні спостереження в 1,15 разів ($p_1 < 0,001$) в порівнянні з щурами 2 групи (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Вплив препарата аутоплазми I-PRP на біохімічні показники в гомогенатах кістки нижньої щелепи щурів ($M \pm m$)

Досліджувальні групи	Активність лужної фосфатази, мккат/кг		Активність кислої фосфатази, мккат/кг		Вміст кальцію, ммоль/кг		Вміст фосфору, ммоль/кг	
	I термін	II термін	I термін	II термін	I термін	II термін	I термін	II термін
1. Інтактні щури + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	64,66 ± 6,10	66,95 ± 5,57 p ₂ > 0,7	2,45 ± 0,30	3,26 ± 0,24 p ₂ < 0,05	2,64 ± 0,03	2,62 ± 0,06 p ₂ > 0,8	1,59 ± 0,09	1,58 ± 0,07 p ₂ > 0,8
2. Модель пародонтита + ін'єкції фіз. р-ну, n = 10	36,67 ± 1,84 p < 0,001	43,05 ± 3,42 p < 0,05 p ₂ > 0,1	4,51 ± 0,31 p < 0,001	3,28 ± 0,16 p > 0,8 p ₂ < 0,002	2,53 ± 0,11 p > 0,4	2,47 ± 0,07 p > 0,2 p ₂ > 0,7	1,42 ± 0,02 p > 0,1	1,46 ± 0,04 p > 0,2 p ₂ > 0,8
3. Модель пародонтита + ін'єкції I-PRP, n = 7	73,94 ± 5,37 p > 0,25 p ₁ < 0,001	79,19 ± 4,97 p > 0,25 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,6	4,13 ± 0,30 p < 0,001 p ₁ > 0,4	3,86 ± 0,24 p > 0,1 p ₁ > 0,1 p ₂ > 0,4	2,60 ± 0,13 p > 0,8 p ₁ > 0,6	2,58 ± 0,13 p > 0,6 p ₁ > 0,5 p ₂ > 0,8	1,58 ± 0,09 p > 0,8 p ₁ > 0,6	1,68 ± 0,02 p > 0,2 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,3

Примітка: p - показник вірогідності відмінності інтактної групи; p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей між I та II термінами.

Доведена нами в експерименті остеотропна дія плазми, збагаченої тромбоцитами, безперечно, пояснюється високим вмістом в тромбоцитах великої кількості факторів росту, так як відомо, що інсуліноподібний фактор росту, трансформуючий фактор росту, кислий і основний фактори росту фібробластів, фактор росту тромбоцитів надають безпосередній вплив на активність остеобластів, хоча роль кожного з цих факторів остаточно не з'ясована [312].

4.2 Вплив плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти на тканини пародонта в умовах моделювання пародонтиту у щурів

Нами також проведені дослідження ефективності застосування плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми, гіалуронової кислоти (ГК) та комплексу цих препаратів на експериментальній моделі пародонтиту шляхом моделювання захворювання наложенням лігатур.

Ефективність лікування оцінювали по біохімічним показникам в сироватці крові, гомогенатах ясен та альвеолярному відростку.

У таблиці 4.6 представлені результати дослідження загальної протеолітичної активності в сироватці крові щурів, які отримували препарат плазмгель, гель з ГК або комплекс цих препаратів при моделюванні лігатурної моделі пародонтиту.

Як видно з цих даних, при моделюванні пародонтиту у 2-й групі достовірно підвищується ЗПА, як в першому терміні у самок $1,94 \pm 0,11$ нкат / л, у самців $1,82 \pm 0,10$ нкат / л, так і в другому терміні у самок $2,0 \pm 0,10$ нкат / л і у самців $2,32 \pm 0,14$ нкат / л сироватка крові, що свідчить про розвиток запалення у організмі щурів.

Таблиця 4.6

Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на загальну протеолітичну активність в сироватці крові щурів ($M \pm m$)

Показники Групи	Стать	ЗПА, нкат/л	
		1 термін	2 термін
1	2	3	4
Група 1 (контроль)	♀ n=5	0,76±0,04	0,70±0,03
	♂ n=5	0,81±0,06	0,78±0,06
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	1,94±0,11 p< 0,001	2,0±0,10 p< 0,001 p ₄ > 0,6
	♂ n=5	1,82±0,10 p< 0,001	2,32±0,14 p< 0,001 p ₄ < 0,05
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	1,12±0,11 p< 0,001 p ₁ < 0,001	1,0±0,05 p< 0,01 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,3
	♂ n=5	1,34±0,10 p< 0,001 p ₁ < 0,001	0,92±0,04 p< 0,01 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,01
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	1,39±0,09 p< 0,001 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,1	1,24±0,09 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
	♂ n=5	1,64±0,08 p< 0,001 p ₁ > 0,2 p ₂ < 0,0021	1,42±0,09 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₄ > 0,1

Продовження таблиці 4.6

1	2	3	4
Група 5 Модель + плазмогель+ ГК	♀ n=5	1,0±0,08 p< 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,4 p ₃ < 0,001	0,78±0,04 p> 0,3 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₃ < 0,002 p ₄ < 0,05
	♂ n=5	1,15±0,09 p< 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2 p ₃ < 0,002	0,84±0,07 p> 0,4 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,6 p ₃ < 0,002 p ₄ < 0,05

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

Нанесення препаратів комплексу (плазмогель + ГК) призводить до достовірного зниження ЗПА, як в I терміні у самок $1,0 \pm 0,08$ нкат / л і у самців $1,15 \pm 0,09$ нкат / л, так і в II терміні у самок $0,78 \pm 0,04$ нкат / л і самців $0,84 \pm 0,07$ нкат / л. І практично такі ж показники ми отримали в групі інтактних тварин, в I терміні у самок $0,76 \pm 0,04$ нкат / л і у самців $0,81 \pm 0,06$ нкат / л, у II терміні у самок $0,70 \pm 0,03$ нкат / л і самців $0,78 \pm 0,06$ нкат / л. Що говорить про те, що комплекс препаратів має протизапальні властивості.

Результати дослідження вмісту інгібітору трипсину представлені в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7

Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на вміст інгібітору трипсіну в сироватці крові щурів ($M \pm m$)

Показники Групи	Стать	Вміст ІТ, г/л	
		1 термін	2 термін
1	2	3	4
Група 1 (контроль)	♀ n=5	1,58±0,08	1,52±0,05
	♂ n=5	1,36±0,09	1,30±0,05
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	0,574±0,030 p< 0,001	0,532±0,018 p< 0,001 p ₄ > 0,5
	♂ n=5	0,560±0,024 p< 0,001	0,512±0,012 p< 0,001 p ₄ > 0,4
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	0,800±0,033 p< 0,001 p ₁ < 0,002	0,915±0,011 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,002
	♂ n=5	0,786±0,031 p< 0,001 p ₁ < 0,02	0,940±0,018 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,002
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	0,712±0,036 p< 0,001 p ₁ < 0,01 p ₂ > 0,1	0,876±0,016 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₄ < 0,02
	♂ n=5	0,700±0,024 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2	0,862±0,012 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,25 p ₄ < 0,02

Продовження таблиці 4.7

1	2	3	4
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	0,712±0,036 p< 0,001 p ₁ < 0,01 p ₂ > 0,1	0,876±0,016 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₄ < 0,02
	♂ n=5	0,700±0,024 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2	0,862±0,012 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,25 p ₄ < 0,02
Група 5 Модель + плазмгель+ ГК	♀ n=5	0,984±0,042 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,001	1,42±0,09 p>0,2 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,002
	♂ n=5	0,965±0,030 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,001	1,26±0,08 p>0,6 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,002

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

Як видно з представлених даних, лігатурна модель пародонтиту призводить до достовірного зниження інгібітору трипсину з 0,574 ± 0,030 г / л в першому терміні до 0,532 ± 0,018 г / л у другому терміні у самок. І з 0,560 ± 0,024 г / л до 0,512 ± 0,012 г / л у другому терміні у самців, що говорить про зниження неспецифічної резистентності на 63,67 %. Після

проведеного лікування цей показник у другому терміні збільшився в групі з використанням плазмогелю до $0,915 \pm 0,011$ г/л, в групі з гіалуроновою кислотою до $0,876 \pm 0,016$ г/л, в групі з комбінацією плазмогелю та гіалуронової кислоти до $1,42 \pm 0,09$ г/л.

Проведене лікування призводить до достовірного підвищення інгібітору трипсину в сироватці крові у всіх трьох групах. Так в 3-й групі, у самок втерміні в 1,3 рази, в II терміні в 1,7 раз, у самців в I терміні в 1,4 рази, в II терміні в 1,8 раз. У 4-й групі, у самок в I терміні в 1,2 рази, в II терміні в 1,6 раз, у самців в I терміні в 1,25 раз, в II терміні в 1,7 раз. І в 5-й групі, у самок в I терміні в 1,7 рази, в II терміні в 2,6 раз, у самців в I терміні в 1,7 рази, в II терміні в 2,4 рази.

Комбіноване застосування препаратів плазмогелю та гіалуронової кислоти призвело до вірогідного збільшення показника, що дає можливість припустити, що дана комбінація дозволяє підвищити захисні можливості організму тварин [313].

Одним з важливих механізмів нормального функціонування організму є підтримання балансу процесів вільно радикального і перекисного окислення ліпідів та стану системи антиоксидантного захисту (АОЗ), зокрема зниження вмісту МДА при одночасному збільшенні активності каталази, як ферменту антиоксидантного захисту.

Дослідження вмісту МДА у сироватці крові лабораторних щурів представлено в таблиці 4.8.

В другій групі в першому терміні відзначалось різке підвищення вмісту МДА на 66,4 % у самок і 72,3 % у самців, у другому терміні на 73,6 % у самок та на 73,5 % у самців.

У групі 3, ми бачимо достовірне зниження вмісту МДА у самок на 30,8 %, у самців на 41,0 % в першому терміні та на 53,7 % у самок та 53,0 % у самців в другому терміні.

Таблиця 4.8

Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на вміст МДА в сироватці крові щурів ($M \pm m$)

Показники Групи	Стать	Вміст МДА, ммоль/л	
		1 термін	2 термін
1	2	3	4
Група 1 (контроль)	♀ n=5	0,36±0,02	0,32±0,03
	♂ n=5	0,40±0,03	0,35±0,02
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	1,07±0,09 p < 0,001	1,21±0,09 p < 0,001 p ₄ > 0,3
	♂ n=5	1,44±0,07 p < 0,001	1,32±0,07 p < 0,001 p ₄ > 0,6
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	0,74±0,05 p < 0,001 p ₁ < 0,001	0,56±0,04 p < 0,05 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,05
	♂ n=5	0,85±0,06 p < 0,001 p ₁ < 0,001	0,62±0,05 p < 0,05 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,05
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	0,84±0,04 p < 0,001 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,2	0,68±0,04 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05 p ₄ < 0,05
	♂ n=5	0,88±0,05 p < 0,001 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,6	0,60±0,04 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,4 p ₄ < 0,05

Продовження таблиці 4.8

1	2	3	4
Група 5 Модель + плазмгель+ ГК	♀ n=5	0,68±0,04 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,4 p ₃ < 0,01	0,30±0,03 p> 0,7 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,01 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,02
	♂ n=5	0,72±0,04 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,25 p ₃ < 0,02	0,34±0,04 p> 0,7 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,02

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

У четвертій групі, вміст МДА так само підвищувався у самок на 21,5 % в першому терміні та на 43,8 % у другому терміні, у самців на 38,9 % в першому терміні та на 54,5 % у другому терміні.

У групі 5, були отримані показники вірогідного зниження вмісту МДА, у самок в першому терміні на 36,4 %, в другому терміні на 75,2 %, у самців в першому терміні на 50,0 %, у другому терміні на 74,2 %.

Результати дослідження активності каталази представлено в таблиці 4.9.

В другій групі в першому терміні відзначався вірогідне зниження активності каталази на 54,5 % у самок і 46,2 % у самців, у другому терміні на 59,6 % у самок та на 51,0 % у самців, що говорить про значне погіршення роботи системи антиоксидантного захисту у піддослідних тварин [314].

Таблиця 4.9

**Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на активність
каталази в сироватці крові щурів ($M \pm m$)**

Показники Групи	Стать	Активність каталази, мкат/л	
		1 термін	2 термін
1	2	3	4
Група 1 (контроль)	♀ n=5	0,55±0,02	0,57±0,03
	♂ n=5	0,52±0,03	0,51±0,02
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	0,25±0,02 p < 0,001	0,23±0,02 p < 0,001 p ₄ > 0,6
	♂ n=5	0,28±0,02 p < 0,001	0,25±0,02 p < 0,001 p ₄ > 0,6
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	0,40±0,03 p < 0,001 p ₁ < 0,001	0,44±0,03 p < 0,001 p ₁ < 0,002 p ₄ > 0,1
	♂ n=5	0,38±0,02 p < 0,001 p ₁ < 0,001	0,42±0,03 p < 0,001 p ₁ < 0,01 p ₄ > 0,5
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	0,32±0,02 p < 0,001 p ₁ < 0,02 p ₂ > 0,4	0,38±0,02 p < 0,001 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,6 p ₄ > 0,5
	♂ n=5	0,33±0,02 p < 0,001 p ₁ > 0,1 p ₂ > 0,3	0,40±0,02 p < 0,001 p ₁ > 0,25 p ₂ > 0,6 p ₄ > 0,5

Продовження таблиці 4.9

1	2	3	4
Група 5 Модель + плазмогель+ ГК	♀ n=5	0,44±0,03 p< 0,002 p ₁ < 0,01 p ₂ > 0,5 p ₃ < 0,002	0,53±0,02 p> 0,2 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,02
	♂ n=5	0,40±0,03 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,5 p ₃ > 0,13	0,47±0,02 p> 0,2 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,05

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

У групі, де лікування проводилося плазмогелем, ми бачимо достовірне підвищення активності каталази у самок на 37,5 %, у самців на 26,3 % в першому терміні і на 47,7 % у самок та 40,5 % у самців в другому терміні.

У четвертій групі, активність каталази так само підвищувалась у самок на 21,9 % в першому терміні та на 39,5 % у другому терміні, у самців на 15,2 % в першому терміні та на 37,5 % у другому терміні.

У групі 5, були отримані показники вірогідного підвищення активності каталази, у самок в першому терміні на 43,2 %, в другому терміні на 56,6 %, у самців в першому терміні на 30,0 %, у другому терміні на 46,8 %.

Нейтрофільна (лейкоцитарна) еластаза грає роль в різних запальних процесах. Володіючи протеолітичною активністю має здатність розщеплювати білок. У таблиці 4.10 представлені результати дослідження впливу плазмогеля, ГК і комплексу препаратів на активність еластази в сироватці крові щурів.

Таблиця 4.10

**Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на активність
еластази в сироватці крові щурів ($M \pm m$)**

Показники Групи	Стать	Активність еластази, мк-кат/л	
		1 термін	2 термін
1	2	3	4
Група 1 (контроль)	♀ n=5	123,2±6,8	116,5±7,4
	♂ n=5	131,8±7,4	122,8±9,1
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	240,6±10,8 p< 0,001	200,4±8,7 p< 0,001 p ₄ < 0,01
	♂ n=5	236,8±10,2 p< 0,001	207,3±9,6 p< 0,001 p ₄ < 0,05
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	166,4±10,6 p< 0,02 p ₁ < 0,001	155,7±8,7 p< 0,002 p ₁ < 0,002 p ₄ > 0,4
	♂ n=5	174,2±10,9 p< 0,002 p ₁ < 0,001	154,7±8,4 p< 0,002 p ₁ < 0,002 p ₄ > 0,1
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	178,3±7,5 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,4	160,1±9,1 p< 0,02 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,5 p ₄ > 0,2
	♂ n=5	180,4±9,4 p< 0,002 p ₁ < 0,02 p ₂ > 0,2	164,6±8,7 p< 0,02 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,5 p ₄ > 0,2

Продовження таблиці 4.10

1	2	3	4
Група 5 Модель + плазмогель+ ГК	♀ n=5	134,8 ±7,7 p> 0,1 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ < 0,001	114,4±7,2 p> 0,7 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,05
	♂ n=5	156,3±9,8 p< 0,02 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2 p ₃ > 0,1	126,4±9,0 p> 0,7 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ < 0,01 p ₄ < 0,05

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

Показано, що в другій групі особливо в першому терміні відзначався різкий підйом показника на 48,8 % у самок і 44,3 % у самців, у другому терміні незначне зниження відносно першого терміну на 16,7 % у самок і ще менш виражене у самців на 12,5 %, оскільки швидше за все у тварин починають розвиватися пристосувальні реакції до запального процесу.

У групі, де лікування проводилося плазмогелем, ми бачимо достовірне зниження еластазної активності у самців на 26,4 % в першому терміні і на 25,4 % у другому терміні. У самок на 30,8 % в першому терміні і на 22,3 % у другому терміні. Імовірно це можна пов'язати з тим, що сам плазмогель є препаратом отриманим з аутоплазми, а відповідно має білкову структуру і при цьому відновлює баланс білків в організмі щурів.

У четвертій групі, де лікування виконували гіалуроновою кислотою, активність еластази так само знижувалася і у самок на 25,9 % в першому терміні та на 20,1 % у другому терміні, і у самців на 23,8 % в першому терміні та на 20,6 % у другому терміні. Гіалуронова кислота є протизапальним

агентом, призводить до зниження рівня прозапальних цитокінів і відіграє активну роль у підтримці імунної толерантності, перешкоджає активації лімфоцитів.

У групі 5, лікування якої проводилося комплексом препаратів з плазмогеля і ГК, були отримані показники достовірного зниження активності еластази практично до рівня показників у інтактних тварин (відмінність від групи інтактних тварин $p > 0,1$, відмінність від групи з моделлю пародонтиту $p_1 < 0,001$). Показники у самок в першій групі в першому терміні склали $123,2 \pm 6,8$ мк-кат / л, а в 5-й групі $134,8 \pm 7,7$ мк-кат / л, у другому терміні в 1-й групі $116,5 \pm 7,4$ мк-кат / л і в 5-й групі $114,4 \pm 7,2$ мк-кат / л. У самців в першій групі в 1-му терміні $131,8 \pm 7,44$ мк-кат / л, у другому терміні $122,8 \pm 9,144$ мк-кат / л, а в 5-й групі в першому терміні $156,3 \pm 9,8$ мк-кат / л і в другому терміні $126,4 \pm 9,0$ мк-кат / л. При порівнянні показників в групах між самками і самцями достовірних відмінностей немає, але простежується тенденція до більш швидкого ефекту від лікування у самок порівняно з самцями.

Результати змін індексу АПІ представлені в таблиці 4.11.

Таблиця 4.11

Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на динаміку індексу АПІ в сироватці крові щурів ($M \pm m$)

Показники Групи	Стать	Індекс АПІ	
		1 термін	2 термін
1	2	3	4
Група 1 (контроль)	♀ n=5	$15,27 \pm 0,47$	$17,81 \pm 0,40$
	♂ n=5	$13,0 \pm 0,24$	$14,57 \pm 0,28$

Продовження таблиці 4.11

1	2	3	4
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	2,33±0,18 p< 0,001	1,90±0,10 p< 0,001 p ₄ < 0,05
	♂ n=5	1,95±0,12 p< 0,001	1,89±0,11 p< 0,001 p ₄ > 0,6
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	5,41±0,32 p< 0,001 p ₁ < 0,001	7,85±0,27 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,002
	♂ n=5	4,47±0,28 p< 0,001 p ₁ < 0,001	6,77±0,34 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,1
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	3,81±0,26 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002	5,58±0,25 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002 p ₄ < 0,01
	♂ n=5	3,75±0,18 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05	6,66±0,20 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,5 p ₄ < 0,01
Група 5 Модель + плазмогель+ ГК	♀ n=5	6,47±0,43 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₃ < 0,002	14,66±0,44 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001
	♂ n=5	5,56±0,32 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ < 0,001	11,76±0,56 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

Антиоксидантно-прооксидантний індекс відображає співвідношення активності антиоксидантних систем і процесів пероксидації ліпідів.

При оцінці індексу АПІ в першій групі тварин показник у самок в першому терміні склав $15,27 \pm 0,47$, у другому терміні $17,81 \pm 0,40$, у самців показник АПІ був менше ніж у самок, в першому терміні $13,0 \pm 0,24$ і в другому терміні $14,57 \pm 0,28$.

У групі з моделлю пародонтиту, де тварини не отримували лікування (II група) індекс АПІ у самок зменшився на 84,75 % у другому на 89,34 %, у самців на 85,0 % в першому терміні і на 87,03 % у другому терміні.

У групі, де лікування проводилося плазмогелем, ми бачимо підвищення індексу АПІ, як у самок в першому терміні на 56,9 % і в другому терміні на 75,8 %, так і у самців на 56,4 % в першому терміні і на 72,1 % у другому терміні.

У четвертій групі, де лікування було виконано препаратом гіалуронової кислоти показник так само підвищувався, але в першому терміні у самок на 38,8 % так і у самців на 48,0 % незначно в порівнянні з третьою групою $p_2 < 0,002$. Але в другому терміні цей показник підвищувався у другому терміні на 65,9 %, у самців на 71,6 %.

В групі із застосуванням комбінації препаратів з плазмогеля і ГК були отримані показники достовірного підвищення індексу АПІ. І так, в першому терміні у самок показник збільшився на 64,0 %, у самців на 64,9 %. А ось у другому терміні індекс АПІ практично відповідав показникам в групі інтактних тварин. І збільшився у самок на 87,0 %, а у самців на 83,9 %.

Як видно з проведених досліджень, показник АПІ при моделюванні пародонтиту лігатурною моделлю знижується практично в 6,5 разів у порівнянні з групою інтактних тварин. Застосування регенеративних методик з використанням плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми і препарату з гіалуроновою кислотою сприяє достовірному підвищенню індексу АПІ, що дає

можливість говорити про здатність даного комплексу покращувати стан антиоксидантної системи [315].

Результати біохімічних досліджень гомогенатов ясен щурів представлені в таблицях 4.12, 4.13.

Малоновий діальдегід (МДА) розглядають як сигнал про наявність процесів, пов'язаних з виникненням оксидативних стресових ситуацій в тканинах.

Каталаза, є ферментом, який забезпечує розкладання перекису водню на воду і молекулярний кисень, в цьому і полягають її антиоксидантні властивості.

У таблиці 4.12 представлені результати визначення вмісту МДА та активності каталази в гомогенатах ясен щурів після лікування плазмогелем, ГК і комплексом препаратів.

Таблиця 4.12

Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на активність каталази та вміст МДА в гомогенатах ясен щурів ($M \pm m$)

Показники Групи	Стать	Активність каталази, мкат/кг		Вміст МДА, ммоль/кг	
		1 термін	2 термін	1 термін	2 термін
1	2	3	4	5	6
Група 1 (контроль)	♀ n=5	9,0±0,30	9,15±0,42	4,45±0,32	4,21±0,28
	♂ n=5	8,74±0,28	8,85±0,36	4,96±0,26	4,60±0,21
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	5,16±0,34 p< 0,001	5,0±0,24 p< 0,001 p ₄ > 0,7	8,94±0,22 p< 0,001	9,1±0,30 p< 0,001 p ₄ > 0,7
	♂ n=5	5,42±0,28 p< 0,001	4,90±0,22 p< 0,001 p ₄ > 0,2	9,0±0,28 p< 0,001	9,5±0,26 p< 0,001 p ₄ > 0,5

Продовження таблиці 4.12

1	2	3	4	5	6
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	6,82±0,2 p< 0,001 p ₁ < 0,002	7,40±0,34 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,25	6,04±0,26 p< 0,001 p ₁ < 0,001	5,10±0,30 p< 0,05 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,05
	♂ n=5	6,40±0,32 p< 0,001 p ₁ < 0,02	7,0±0,36 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,2	6,28±0,32 p< 0,001 p ₁ < 0,001	5,32±0,34 p> 0,1 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,05
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	6,23±0,20 p< 0,001 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,1	7,20±0,42 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,7 p ₄ < 0,05	7,0±0,28 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02	6,05±0,32 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₄ < 0,02
	♂ n=5	6,15±0,32 p< 0,001 p ₁ > 0,1 p ₂ > 0,3	7,12±0,40 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,7 p ₄ < 0,05	7,2±0,31 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05	6,24±0,28 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05 p ₄ < 0,05
Група 5 Модель + плазмогель+ ГК	♀ n=5	8,10±0,24 p< 0,01 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,001	8,96±0,18 p> 0,6 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,01 p ₄ < 0,01	5,20±0,22 p> 0,5 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05 p ₃ < 0,02	4,60±0,20 p> 0,25 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2 p ₃ < 0,002 p ₄ > 0,1
	♂ n=5	7,80±0,21 p< 0,02 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,001	8,36±0,34 p> 0,2 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05 p ₃ < 0,05 p ₄ < 0,02	5,52±0,18 p> 0,5 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05 p ₃ < 0,02	5,0±0,28 p> 0,3 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,6 p ₃ < 0,002 p ₄ > 0,1

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

Отримані дані показують вірогідне підвищення вмісту МДА в групі з моделлю патології без лікування, в першому терміні у самок на 50,3 %

і на 44,9 % у самців, у другому терміні показник збільшився на 53,8 % у самок і 51,6 % у самців. Це майже в 2 рази перевищує показники норми $p < 0,001$. У третій групі, ми бачимо достовірне зниження вмісту МДА в порівнянні з показниками при пародонти ті, у самців на 30,2 % в першому терміні і на 44,0 % у другому терміні. У самок на 32,4 % в першому терміні і $5,10 \pm 0,30$ ммоль / л у другому терміні.

У групі, де для лікування використовували гіалуронову кислоту, показник МДА так само знижувався і у самок на 21,7 % в першому терміні і на 33,5 % у другому терміні, і у самців на 20,0 % в першому терміні і на 34,3 % у другому терміні.

У п'ятій групі, показник МДА вірогідно знизився. Показники у самок в першому терміні зменшився на 41,8 %, а в другому терміні на 49,4 %. У самців в 1-м терміні на 38,7 %, у другому терміні 47,4 %. Отримані показники дозволяють припустити, що в тканинах пародонта відбувається зниження окисного стресу.

У другій групі активність каталази різко знижена як в першому терміні у самок на 42,7 % і у самців на 38,0 %, так і в другому терміні у самок на 45,4 % і у самців на 47,7 %.

У третій групі показник активності каталази підвищувався і в першому терміні, у самок на 24,3 % і у самців на 15,3 %, і в другому, у самок на 32,4 %, у самців на 30,0 %.

В четвертій групі активність каталази так само, як і в третій групі, підвищувалася, в першому терміні у самок на 17,2 %, у самців на 11,9 %, а в другому терміні у самок на 30,6 % і у самців на 31,2 %.

У п'ятій групі досліджуваних тварин активність каталази вірогідно підвищувалася і в першому, і в другому термінах. І при порівнянні з показниками групи контролю, у другому терміні досягла показників норми $p > 0,3$. Так у самок в п'ятій групі, в першому терміні показник

збільшився відносно тварин з пародонтитом на 36,3 %, у самців на 30,5 %, у другому терміні у самок на 80,0 %, у самців на 41,4 %.

Дослідження динаміки АПІ представлено в таблиці 4.13.

Таблиця 4. 13

Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на динаміку індексу АПІ в гомогенатах ясен щурів ($M \pm m$)

Показники Групи	Стать	Індекс АПІ	
		1 термін	2 термін
1	2	3	4
Група 1 (контроль)	♀ n=5	20,22±0,56	21,73±0,62
	♂ n=5	17,62±0,64	19,23±0,58
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	5,77±0,32 p < 0,001	5,49±0,30 p < 0,001 p ₄ > 0,1
	♂ n=5	6,02±0,44 p < 0,001	5,15±0,28 p < 0,001 p ₄ > 0,2
Група 3 Модель + гель PRP	♀ n=5	11,29±0,38 p < 0,001 p ₁ < 0,001	14,50±0,40 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,001
	♂ n=5	10,19±0,46 p < 0,001 p ₁ < 0,001	13,15±0,41 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,001
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	8,90±0,52 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002	11,90±0,38 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₄ < 0,001
	♂ n=5	8,54±0,34 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002	11,41±0,36 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₄ < 0,001

Продовження таблиці 4.13

1	2	3	4
Група 5 Модель + (гель PRP+ ГК)	♀ n=5	15,57±0,56 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001	19,47±0,47 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001
	♂ n=5	14,13±0,61 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001	16,72±0,44 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,002

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

При оцінці індексу АПІ в групі з моделлю пародонтиту, показники відносно групи контролю знизилися, у самок в першому терміні на 71,5 %, у другому на 76,2 %, у самців на 65,9 % в першому терміні і на 73,3 % у другому терміні.

У групі, де лікування проводилося плазмогелем, індекс АПІ підвищувався, у самок в першому терміні на 48,9 %, у другому терміні на 62,1 %, і у самців на 40,9 % в першому терміні і на 60,8 % у другому терміні.

У групі, де для лікування використовували препарат гіалуронової кислоти показник так само підвищувався, в першому терміні у самок на 35,2 %, у самців на 29,5 %, у другому терміні, у самок на 53,9 %, у самців на 54,9 %. Що значно менше в порівнянні з третьою групою.

У групі з комбінованим лікуванням плазмогелем і ГК були отримані показники вірогідного підвищення індексу АПІ відносно групи з пародонтитом. І так, в першому терміні у самок показник збільшився на 62,9 %, у самців на 54,9 %.

у самців на 57,4 %. У другому терміні індекс АПІ у самок практично досягнув показника в групі інтактних тварин. Збільшення в другому терміні у самок відбулося на 71,8 %, у самців на 69,2 %.

Істотних відмінностей між групами самців і самок за результатами дослідження не відзначалося, але спостерігалася тенденція до більш швидкого відновлення антиоксидантних-прооксидантного балансу у самок порівняно з самцями.

У таблиці 4.14 представлені результати дослідження впливу плазмогеля, ГК і комплексу препаратів на вміст ГК та активність еластази у гомогенатах ясен.

Таблиця 4.14

Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на вміст гіалуронової кислоти і активність еластази в гомогенатах ясен щурів ($M \pm m$)

Показники Групи	Стать	Вміст гіалуронової кислоти, г/кг		Активність еластази, мк-кат/л	
		1 термін	2 термін	1 термін	2 термін
1	2	3	4	5	6
Група 1 (контроль)	♀ n=5	8,60±0,24	8,79±0,27	38,43±1,37	33,40±1,92
	♂ n=5	8,40±0,28	8,45±0,36	37,38 ±2,16	35,62±2,21
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	4,82±0,23 p< 0,001	2,84±0,15 p< 0,001 p ₄ < 0,001	63,42±3,14 p< 0,001	56,23±2,19 p< 0,001 p ₄ > 0,1
	♂ n=5	4,0±0,20 p< 0,001	2,96±0,18 p< 0,001 p ₄ < 0,002	60,03±2,24 p< 0,001	58,20±2,72 p< 0,001 p ₄ > 0,6

Продовження таблиці 4.14

1	2	3	4	5	6
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	5,62±0,12 p< 0,001 p ₁ < 0,002	7,0±0,42 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,002	48,22±2,23 p< 0,001 p ₁ < 0,001	35,71±1,22 p> 0,3 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,001
	♂ n=5	5,30±0,28 p< 0,001 p ₁ < 0,001	6,84±0,35 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,002	51,40±2,85 p< 0,001 p ₁ < 0,02	37,32±1,83 p> 0,6 p ₁ < 0,001 p ₄ < 0,001
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	6,0±0,18 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1	7,86±0,35 p< 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2 p ₄ < 0,002	50,34±3,10 p< 0,001 p ₁ < 0,02 p ₂ > 0,5	45,32±2,81 p< 0,002 p ₁ < 0,002 p ₂ < 0,002 p ₄ > 0,25
	♂ n=5	5,90±0,22 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1	7,45±0,48 p> 0,1 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,3 p ₄ < 0,001	53,82±2,71 p< 0,001 p ₁ > 0,2 p ₂ > 0,7	46,45±2,63 p< 0,002 p ₁ < 0,002 p ₂ < 0,01 p ₄ > 0,1
Група 5 Модель + плазмогель+ ГК	♀ n=5	6,67±0,38 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ > 0,2	8,56±0,50 p> 0,6 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ > 0,3 p ₄ < 0,001	40,61±2,13 p< 0,02 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ < 0,02	37,10±2,10 p> 0,2 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,6 p ₃ < 0,02 p ₄ > 0,25
	♂ n=5	6,42±0,35 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,102 p ₃ > 0,25	8,0±0,45 p> 0,6 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ > 0,5 p ₄ < 0,001	42,23±2,84 p< 0,02 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05 p ₃ < 0,001	39,15±2,14 p> 0,25 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,5 p ₃ < 0,05 p ₄ > 0,4

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

За результатами проведених досліджень встановлено, що лігатурна модель пародонтиту призводить до різкого зниження вмісту ГК в гомогенатах ясен. У 2-й групі в першому терміні активність ГК у самок зменшилась на 44,0 %, у самців на 54,4 % у порівнянні з групою інтактних тварин. У другому терміні, через 3 тижні, показник продовжував знижуватися, у самок на 67,3 %, у самців на 65,0 %.

Встановлено, що при застосуванні для лікування плазмогеля з тромбоцитарної аутоплазми відзначається підвищення вмісту ГК в першому терміні в порівнянні з другою групою на 14,2 % у самок і на 24,5 % у самців. У другому терміні, різниця між групою з лігатурною моделлю пародонтиту без лікування і групою, де лікування проводилося плазмогелем, стала ще більш вираженою та збільшення активності встановлено на 59,4 % у самок, і на 56,7 % у самців. Що дозволяє припустити, що плазмгель сприяє виробленню в тканинах ясен власної ГК.

У четвертій групі вміст ГК мав тенденцію до збільшення в першому терміні лікування у самців на 32,2 %, в другому терміні на 60,3 %. У самок в першому терміні на 19,7 %, в другому терміні на 63,9 %. Такі показники логічні, так як для лікування в цій групі застосовували препарат з високим вмістом ГК.

У гомогенатах ясен 5-ї дослідної групи вміст ГК так само підвищувався і в першому, і в другому термінах. Але в цій групі у другому терміні показник практично досяг рівня норми, при порівнянні з групою інтактних тварин $p > 0,1$. Збільшення відносно групи з пародонтитом відбулося в першому терміні у самок на 27,7 % і у самців на 37,7 %, в другому терміні у самок на 66,8 %, у самців на 63,0 %. Що говорить, про потенціювання ефектів при комбінованому застосуванні препарату плазмгель і препарату з вмістом гіалуронової кислоти. При порівнянні відмінностей лікування між першим і другим терміном, були отримані достовірні відмінності, так у всіх групах, де проводилося лікування, у другому терміні вміст ГК зростає. А в групі з моделлю пародонтиту без

лікування, показник різко знижується, $p_4 < 0,001$, що говорить про прогресування дистрофічного процесу і зниження ресурсу тканин ясен для регенеративних процесів. У групі інтактних тварин різниця у вмісті ГК між першим і другим терміном була відсутня [316].

При порівнянні вмісту ГК у всіх групах з проведеним лікуванням між самцями і самками достовірних відмінностей не виявлено, але є тенденція до більш високого вмісту ГК у самок, що дозволяє припустити, що регенеративний потенціал вище у самок, ніж у самців.

Еластаза має протеолітичну активність і здатна розщеплювати білок, гідролізувати еластин, який є фібрилярним білком сполучної тканини. Еластаза гідролізує еластин - фібрилярний білок сполучної тканини, який формує еластичні волокна, здатна гідролізувати денатурований гемоглобін і денатурований (не інтактний) колаген.

В групі тварин з моделюванням пародонтиту, яким лікування не проводилося відзначається різке підвищення активності еластази, в першому терміні у самок на 39,4 %, у самців на 37,7 %, в другому терміні на 40,6 % у самок і у самців на 38,8 % відносно групи контролю. Можна припустити, що це відбувається за рахунок адаптації тварин до розвитку запального процесу.

У групі, де лікування проводилося плазмогелем, відбувалося вірогідне зниження показника активності еластази, в першому терміні на 24,0 % у самок і на 14,4 % у самців, у другому терміні на 36,5 % у самок і на 35,9 % у самців. У другому терміні показник практично знизився до показників групи інтактних тварин $p > 0,3$. Отримані дані говорять про те, що плазмгель, будучи аутологічним препаратом дозволяє прискорити процес відновлення тканин пародонта. Найімовірніше, це пов'язано з надходженням в тканини власних білкових продуктів, які знаходяться в складі препарату.

Група експериментальних тварин, в якій лікування проводили препаратом гіалуронової кислоти, також показала зниження показників

активності еластази в обидва терміни спостереження. У першому терміні показник знижувався на 20,6 % у самок і на 10,3 % у самців. У другому терміні на 19,4 % у самок та на 20,2 % у самців. При порівнянні з показниками 3-ї групи в другому терміні достовірно видно, що активність еластази знижується, як у самок, так і у самців ($p_2 < 0,002$), а отже і протизапальний ефект більш виражений при використанні аутологічного препарату плазмогель.

У 5-й групі були отримані показники достовірного зниження активності еластази щодо 2-ї групи ($p_1 < 0,001$). Показник у самок в першому терміні зменшився на 36,0 % , у другому терміні на 34,0 %. У самців в першому терміні на 29,7 % і в другому терміні на 32,7 % [317].

4.3 Визначення стану кісткового метаболізму при лікуванні експериментального пародонтиту плазмогелем та гіалуроновою кислотою

Наукові дослідження останніх років свідчать про важливу роль і велике патогенетичне значення системних порушень метаболізму кісткової тканини для розвитку і прогресування генералізованого пародонтиту.

Доведено зв'язок механізмів деструктивно-резорбтивних змін альвеолярної кістки з системними структурно-функціональними змінами кісткової тканини скелета, які залежать від загального соматичного стану, віку і статі хворого. Деякі дослідження говорять про те, що найбільш істотний вплив на розвиток генералізованого пародонтиту надають системні порушення метаболізму кісткової тканини. Цей факт пов'язують з тим, що посилення процесів резорбції альвеолярної кістки, які залежать від дії декількох пародонтопатогенних факторів (зубна біоплівка, діяльність патогенних мікроорганізмів, низький рівень гігієни порожнини рота) можуть сприяти порушенню процесів ремоделювання кісткової тканини альвеолярних

відростків щелеп, і впливати на загальний стан метаболізму кісткової тканини організму в цілому.

Головним завданням даного етапу роботи став аналіз стану кісткового метаболізму у щурів після лікування експериментального пародонтиту препаратом гіалуронової кислоти, плазмогелем та комбінацією цих препаратів.

Результати даного дослідження мають першочергове значення для визначення доцільності лікування та потреби в використанні методик для відновлення процесів кісткового метаболізму. Швидкість утворення або руйнування матриксу кісткової тканини оцінювали шляхом визначенням активності специфічних ферментів, кислої та лужної фосфатаз.

Треба зазначити, що вибрані показники є, як маркерами синтезу, так і резорбції кістки, слід враховувати, що в умовах патологічного процесу будь-який з цих показників буде відображати динаміку метаболізму кісткової тканини. Іншими словами, біохімічні маркери відображають підсумкові зміни ремоделювання кістки.

Результати біохімічних досліджень гомогенатів кісткової тканини щелеп щурів представлені в таблиці 4.15.

Таблиця 4.15

Вплив плазмогелю і препарата гіалуронової кислоти на активність кислої та лужної фосфатаз в гомогенатах кісткової тканини щелепи щурів ($M \pm m$)

Показники Групи	Стать	Активність КФ, мк-кат/кг		Активність ЛФ, мк-кат/кг	
		1 термін	2 термін	1 термін	2 термін
1	2	3	4	5	6
Група 1 (контроль)	♀ n=5	8,43±0,30	8,24±0,26	9,87±0,38	9,42±0,41
	♂ n=5	9,21±0,44	8,72±0,31	10,42±0,43	9,80±0,36

Продовження таблиці 4.15

1	2	3	4	5	6
Група 2 Модель (контроль)	♀ n=5	16,0±0,47 p< 0,001	17,4±0,56 p< 0,001 p ₄ > 0,1	18,94±0,62 p< 0,001	17,56±0,72 p< 0,001 p ₄ > 0,2
	♂ n=5	15,4±0,34 p< 0,001	18,0±0,72 p< 0,001 p ₄ < 0,001	19,05±0,74 p< 0,001	17,50±0,80 p< 0,001 p ₄ > 0,2
Група 3 Модель + плазмогель	♀ n=5	13,10±0,30 p< 0,001 p ₁ < 0,001	12,0±0,64 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,2	13,26±0,80 p< 0,001 p ₁ < 0,001	13,0±0,76 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,7
	♂ n=5	13,76±0,49 p< 0,001 p ₁ < 0,001	12,64±0,40 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,1	13,84±0,52 p< 0,001 p ₁ < 0,001	13,20±0,84 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,6
Група 4 Модель + ГК	♀ n=5	14,42±0,38 p< 0,001 p ₁ < 0,02 p ₂ < 0,01	13,32±0,49 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₄ > 0,2	14,74±0,60 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2	14,20±0,68 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₄ > 0,5
	♂ n=5	14,90±0,52 p< 0,001 p ₁ > 0,4 p ₂ > 0,2	13,84±0,76 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2 p ₄ > 0,25	14,0±0,72 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,7	14,12±0,72 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,5 p ₄ > 0,5

Продовження таблиці 4.15

1	2	3	4	5	6
Група 5 Модель + плазмогель+ ГК	♀ n=5	11,42±0,44 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,01 p ₃ < 0,001	8,51±0,49 p > 0,8 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	11,30±0,46 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05 p ₃ < 0,001	9,56±0,62 p > 0,4 p ₁ < 0,002 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,05
	♂ n=5	12,0±0,26 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ < 0,001	9,0±0,46 p > 0,2 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,002	11,42±0,38 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,002	10,0±0,56 p > 0,6 p ₁ < 0,002 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,05

Примітка: p - показник вірогідності відмінностей від групи 1 (контроль); p₁ - вірогідність відмінностей від 2 групи; p₂ - вірогідність відмінностей від 3 групи; p₃ - вірогідність відмінностей від 4 групи; p₄ - вірогідність відмінностей між I і II термінами.

Кислу фосфатазу (КФ) вважають сигнальним ферментом активності остеобластів. У таблиці 4.15 представлені результати активності КФ у гомогенатах кісткової тканини щелеп щурів після лікування плазмогелем, ГК і комплексом препаратів. Кількісне визначення лужної фосфатази (ЛФ) для кісткового метаболізму дає корисну інформацію про кісткове ремоделювання, так як даний глікопротеїн, виявлений на клітинній поверхні остеобластів.

Результати отримані в ході дослідження говорять про різке збільшення активності як КФ, так і ЛФ у 2-й групі. Що дає можливість припустити процес активного руйнування альвеолярної кістки, що відбувається в групі з моделлю пародонтиту, де лікування не проводилося. У першому терміні показник КФ збільшився відносно групи контролю у самок на 47,4 %, у другому терміні на 52,7 %. У самців в першому терміні на 46,2 %, у другому терміні на 51,6 %.

Показник активності ЛФ в цій же групі в першому терміні у самок збільшився на 47,9 %, у другому терміні на 46,4 %, у самців в першому терміні на 45,9 %, у другому терміні на 44,0 %.

У третій групі експериментальних тварин показники активності КФ і ЛФ також зростали в порівнянні з групою інтактних тварин. І склали в першому терміні у самок збільшення КФ на 18,1 %, ЛФ на 30,0 %, у другому терміні КФ на 31,0 %, ЛФ на 26,0 %. У самців збільшення в першому терміні активності КФ на 10,6 %, ЛФ на 27,3 %, у другому терміні КФ на 29,8 %, ЛФ на 24,6 %.

У 4-й групі показники активності КФ і ЛФ також підвищувалися щодо групи інтактних тварин, але при цьому вони були нижчі, ніж в групі з моделлю пародонтиту без лікування. У першому терміні активність КФ збільшилась у самок на 9,9 %, ЛФ на 22,2 %, у самців КФ на 3,2 %, ЛФ на 26,5 %. У другому терміні у самок активність КФ на 23,4 %, ЛФ на 19,1 %, у самців КФ на 23,1 %, ЛФ на 19,3 %.

Група з комбінованим застосуванням плазмогелю і гіалуронової кислоти для лікування пародонтиту в першому терміні також, як і всі групи мала підвищення активності КФ і ЛФ. Але в другому терміні показники активності КФ і ЛФ практично знизилися до показників в групі інтактних тварин $p > 0,4$. І склали підвищення активності КФ в першому терміні у самок на 28,6 %, у самців на 22,1 %, ЛФ у самок на 40,3 %, у самців на 40,0 %. В другому терміні зниження КФ відбулося у самок на 51,0 %, у самців на 50,0 %, зниження ЛФ у самок на 45,6 %, у самців на 42,9 %. Так само можна відзначити, що у всіх групах з лікуванням, показник активності КФ мав тенденцію до зниження у другому терміні, а показник активності ЛФ утримувався практично на рівні показників першого терміну, що дає можливість припустити, що активність остеокластів знижувалася, а активність остеобластів тривала і у другому терміні.

Резюме

За результатами проведених біохімічних досліджень у віддалені терміни спостереження, через 3 тижні після закінчення введення ін'єкційної форми аутологічної плазми, у щурів відзначається вірогідне зниження рівня МДА в 1,2 рази в яснах та в 1,4 рази в сироватці крові. При цьому активність каталази в яснах у щурів збільшується в 1,3 рази та у сироватці крові в 1,6 разів, що свідчить про нормалізацію процесів в системі ПОЛ -АОС.

Встановлено, що ін'єкційне введення аутологічної плазми, щурам з експериментальним пародонтитом призвело до активації процесу ремоделювання кістки, про що свідчить вірогідне підвищення активності ЛФ в 2 рази у щелепній кістці в обидва терміни спостереження ($p < 0,001$).

Дослідження біохімічних показників тканин пародонтального комплексу при лікуванні окремо плазмогелем та окремо препаратом гіалуронової кислоти, свідчить про ефективність кожного з цих препаратів для застосування в комплексному лікуванні генералізованного пародонтиту, але при цьому найвірогідніше покращення біохімічних показників відзначалось в групі щурів, яким для лікування використовували схему комбінованого застосування цих препаратів. Це призводило до зниження в сироватці крові загальної протеолітичної активності, вірогідного підвищення інгібітору трипсину у віддаленні терміни в 2,6 разів – у самок та в 2,4 рази – у самців, зниження вмісту МДА у самок на 75,2 %, у самців на 74,2 %, підвищення активності каталази, у самок на 56,6 %, у самців на 46,8 %, зниження еластазної активності, вірогідного підвищення індексу АПІ у самок на 87,0 %, а у самців на 83,9 %.

Результати визначення біохімічних показників в гомогенатах ясен щурів показали, вірогідне зниження вмісту МДА у самок на 49,4 %, у самців на 47,4 %, вірогідне підвищення активності каталази у самок на 80,0 %, у самців на 41,4 %, збільшення індексу АПІ у самок відбулося на 71,8 %, у самців на 69,2 %, підвищення вмісту гіалуронової кислоти у самок на 66,8 %, у

самців на 63,0 %, зниження активності еластази у самок на 34,0 %, у самців на 32,7 %.

Комбіноване застосування плазмогелю та гіалуронової кислоти стимулює кістковий метаболізм на що вказує підвищення активності КФ та ЛФ у першому терміні лікування та вірогідне зниження у другому терміні лікування, показник КФ зменшився у самок на 51,0 %, у самців на 50,0 %, зниження ЛФ у самок на 45,6 %, у самців на 42,9 %.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що при застосуванні препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти у всіх структурах пародонту відбувається зменшення окисного стресу та підвищуються захисні можливості організму тварин.

Доведена ефективність лікування препаратами аутоплазми, як ін'єкційною формою, так і модифікованою формою - плазмогелем. Проведені нами біохімічні дослідження свідчать, що комбіноване застосування препаратів аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти підвищує регенеративні можливості пародонту та має здатність покращувати стан антиоксидантної системи пародонтальних тканин та покращує метаболічні процеси в м'яких та твердих тканинах пародонтального комплексу.

Основні положення розділу висвітлені в публікаціях:

1. Вишневская А.А. Динамика изменений биохимических маркеров воспаления при лечении генерализованного пародонтита с использованием плазмогеля и гиалуроновой кислоты в эксперименте / А.А. Вишневская // Colloquium-journal. – 2020. - №31. – С. 65-71.

2. Vyshnevskia Hanna. Analysis of oxidative stress markers in the treatment of generalized parodontitis with plasmogel and hyaluronic acid in experiment / Hanna Vyshnevskia // Modern science. Moderni veda. – 2020. - №4. – С. 95-103.

3. Вишневская А.А. Метаболизм костной ткани в динамике при лечении генерализованного пародонтита плазмогелем и гиалуронозой кислотой

в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloguium-journal. – 2020. - №21. – С. 19-23. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

4. Вишневская А.А. Локальная методика введения плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и гиалуроновой кислоты для лечения генерализованного пародонтита в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloguium-journal. – 2020. - №22. – С. 50-53. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

5. Вишневская А.А. Влияние обогащенной тромбоцитами плазмы крови на процесс ремоделирования костной ткани челюстей при экспериментальном пародонтите у крыс / Вишневская А.А. // Інновації в стоматології (Досягнення науки і практики в стоматології : наук.-практ. конф., м. Одеса, 23-24 жовтня 2014 р.: тези допов.). – 2014. - №3. – С. 149-150.

6. Вишневская А.А. Экспериментальное обоснование применения плазмогеля и гиалуроновой кислоты для лечения генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская // Інновації в стоматології. – 2019. – № 2. – С. 54-59.

7. Вишневская А.А. Влияние тромбоцитарной аутоплазмы на процесс регенерации тканей пародонта при экспериментальном пародонтите у крыс / А.А. Вишневская // East European Science Journal. – 2018. - №5. – С. 22-24.

РОЗДІЛ 5

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПАРОДОНТАЛЬНОМУ КОМПЛЕКСІ ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КОНСЕРВАТИВНИХ ТА ХІРУРГІЧНИХ РЕГЕНЕРАТИВНИХ МЕТОДИК

Багатовисвітлені закордонні та відомі дослідники описували регенеративні зміни в цементі кореня зубу, зв'язковому апараті та альвеолярній кістці при експериментальних пародонтитах.

В той же час морфологічні зміни при застосуванні регенеративної плазмотерапії описані недостатньо. Нами проведені морфологічні дослідження пародонтального комплексу в різні терміни застосування регенеративних методик. Для підвищення регенерації пародонтального комплексу нами проведено в експерименті вивчення застосування децелюляризованої ліфілізованої амніотичної мембрани людини (ДАМ) і створення мембрани ДАМ + PRP + гіалуронова кислота (ГК).

5.1 Методика створення децелюляризованої ліфілізованої амніотичної мембрани людини і ДАМ + PRP + ГК

Як показали результати проведених досліджень розчини, якими проводилось промивання тканин плаценти, містять Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) (Sigma) і 1% розчин Тритон X-100 повністю видаляють всі наявні клітини плаценти і хоріон-амніотичної мембрани, без пошкодження її структури, що було підтверджено візуально, а також за допомогою гістологічних методів дослідження, скануючої електронної мікроскопії та тестом на ДНК. На рисунку 5.1 представлена нормальна плацента людини і на рисунку 5.2 плацента людини після децелюляризації. На рис. 5.3 для візуалізації судин плаценти через пупкові артерії були введені акварельні

барвники червоного кольору, а через пупкову вену акварельний барвник синього кольору. На рис. 5.4 показан процес відділення децелюляризованої хоріон-амніотичної мембрани від децелюляризованої плаценти.



Рис. 5.1. Нормальна плацента до процесу децелюляризації



Рис. 5.2. Децелюляризована плацента людини

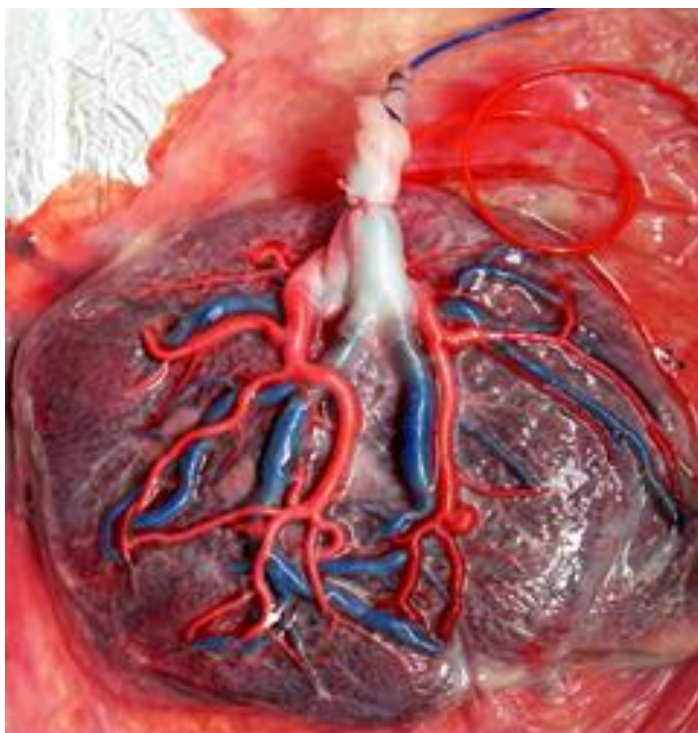


Рис. 5.3. Візуалізації
судин плаценти



Рис. 5.4. Процес відділення
децелюляризованої
хоріон - амніотичної мембрани від
децелюляризованої плаценти людини.

Гістологічні методи дослідження (рис. 5.5, 5.6) і скануюча електронна мікроскопія децелюляризованої амніотичної мембрани показали неушкоджену структуру екстрацелюлярного матриксу та відсутність клітинних елементів (рис. 5.7, 5.8).

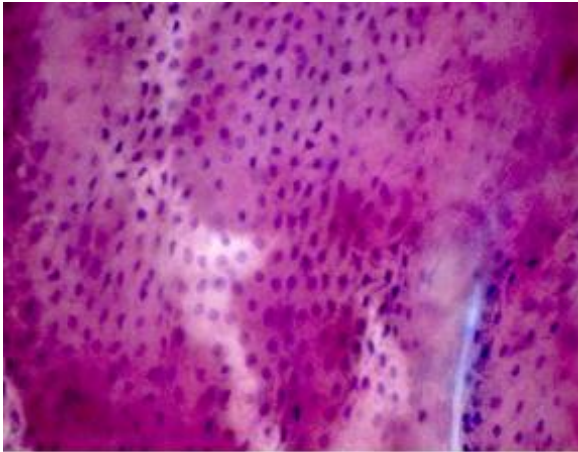


Рис. 5.5. Гістологічна структура нативної амніотичної мембрани. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення x 200.

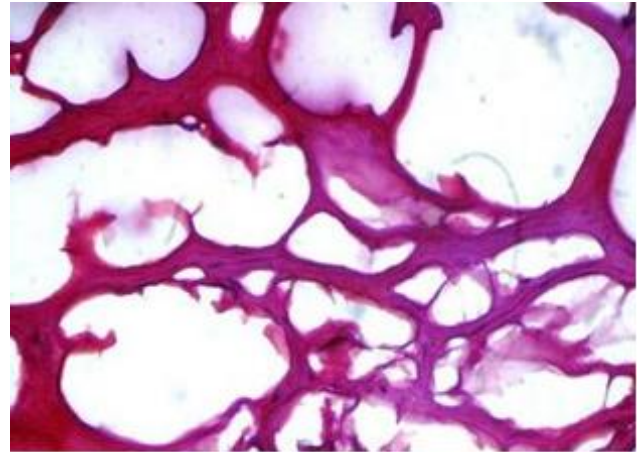


Рис. 5.6. Гістологічна структура децелюляризованої амніотичної мембрани. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення x 400

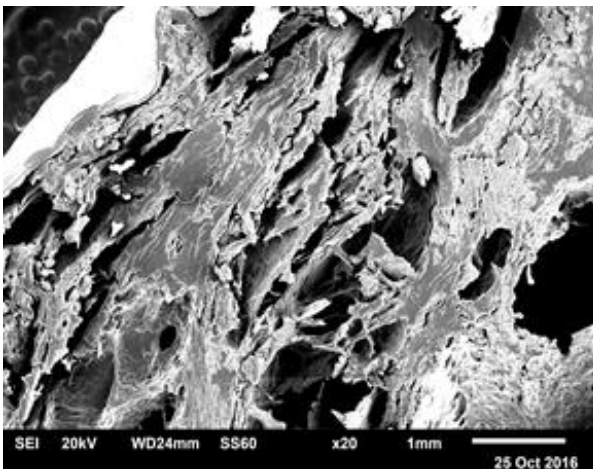


Рис. 5.7. Гістологічна структура амніотичної мембрани до децелюляризації.

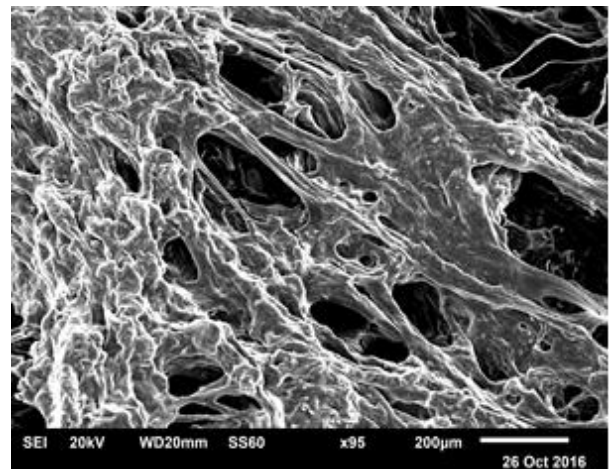


Рис. 5.8. Гістологічна структура амніотичної мембрани після децелюляризації.

Структуру екстрацелюлярного матриксу амніотичної мембрани зберігалася також після ліофілізації та регідратації (рис. 5.9, 5.10).

Як показав кількісний аналіз ДНК, проведений в лабораторії кафедри клінічної анатомії Тбіліського Державного Медичного Університету, вміст

ДНК в хоріон-амніотичної мембрани людини до децелюляризації становив 338 мкг / мл. Після процесу децеллюляції і ліофілізації залишковий вміст ДНК становив менше 2 %.

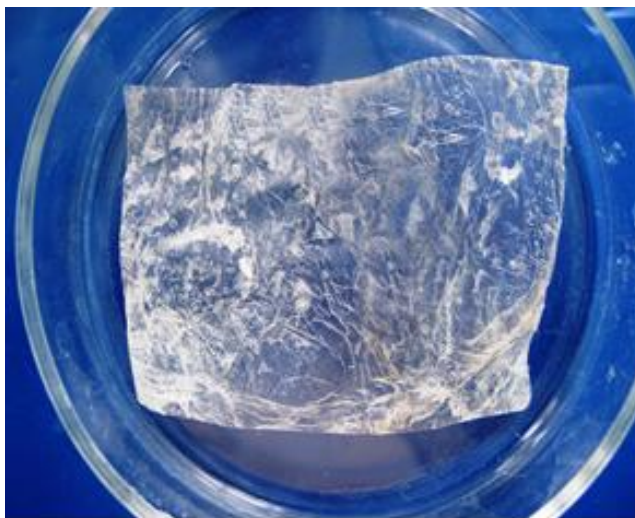


Рис. 5.9. Децелюляризована амніотична мембрана після ліофілізації.

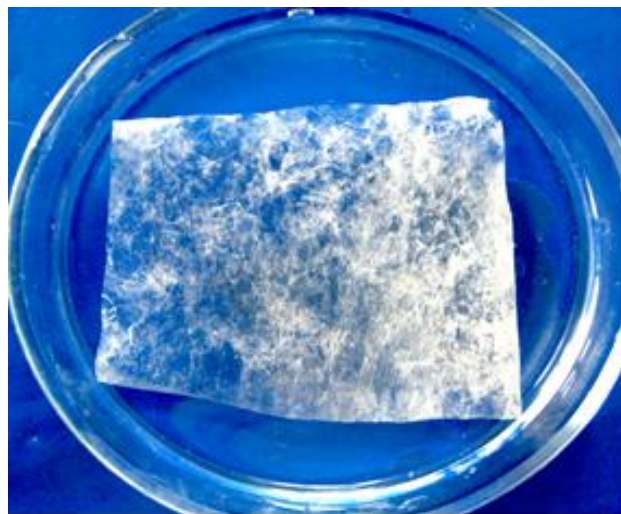


Рис. 5.10. Децелюляризована амніотична мембрана після ліофілізації та регідратації.

Як показали результати дослідження PRP і гіалуронова кислота рівномірно покривали обидві поверхні ліофілізованої і регідрованої амніотичної мембрани (рис. 5.11). Таким чином розроблена нами ДАМ + PRP + ГК володіє пластичністю, може рівномірно вистилати дефекти тканин і щільно прилягати до тканин, не вимагає додаткових витрат в роботі і легка і зручна в експлуатації [318, 319].

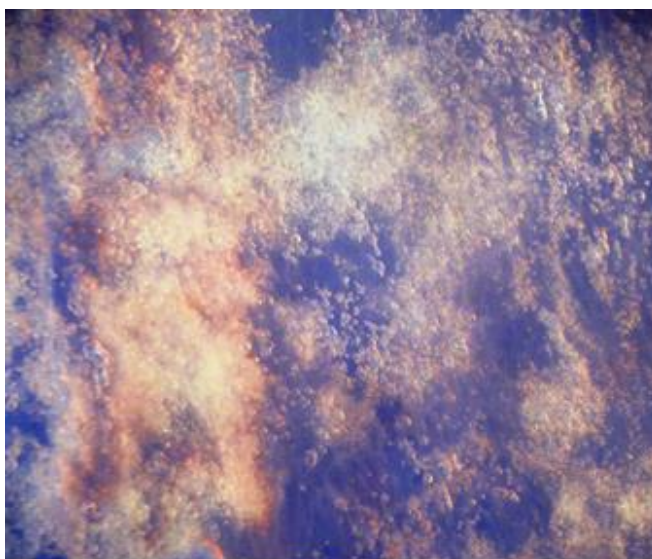


Рис. 5.11. Адгезія PRP і гіалуронової кислоти на передню поверхню регідрованої децелюляризованої амніотичної мембрани.

5.2 Морфологічні дослідження лікування «перекисного» пародонтиту у щурів з використанням ін'єкційної тромбоцитарної аутоплазми

Як показали гістологічні дослідження моделювання пародонтиту з використанням перекисної олії призводить до деструкції епітелію та структури сполучної тканини, витончення колагенових волокон і їх гомогенізації, а також структури кістки. Відразу ж після другого введення тромбоцитарної аутоплазми в епітелії визначається наявність мітозів, що вказує на початок процесу регенерації епітелію.

На рис. 5.12, 5.13, 5.14 представлені мікропрепарати тканин пародонтального комплексу інтактних тварин.

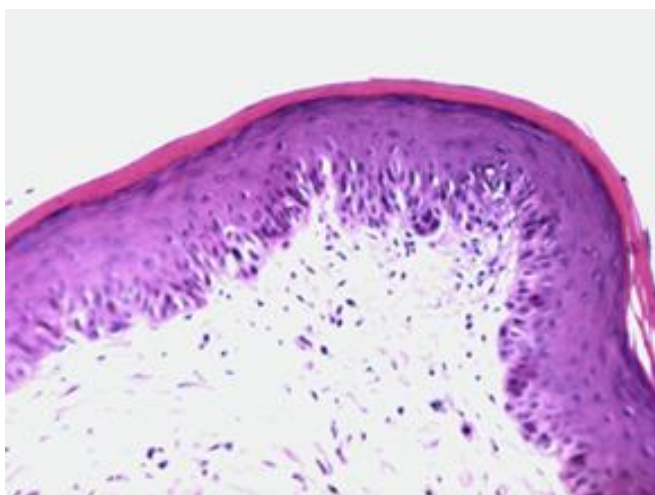


Рис. 5.12. Мікропрепарат ясен інтактних щурів.
Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 200.

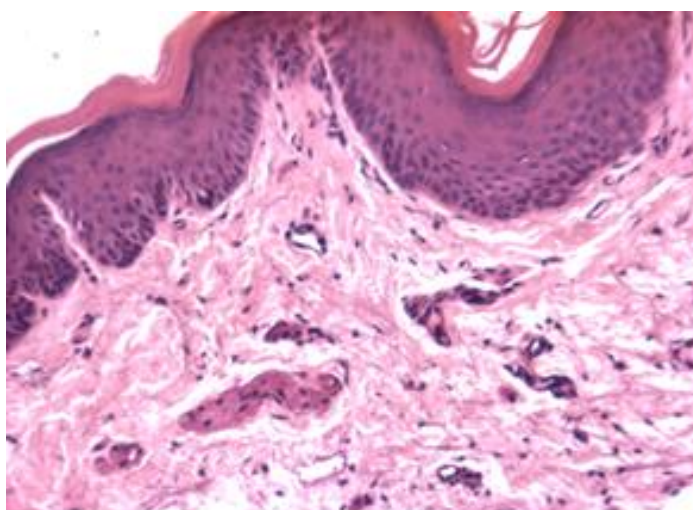


Рис. 5.13. Мікропрепарат ясен інтактних щурів.
Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 400.

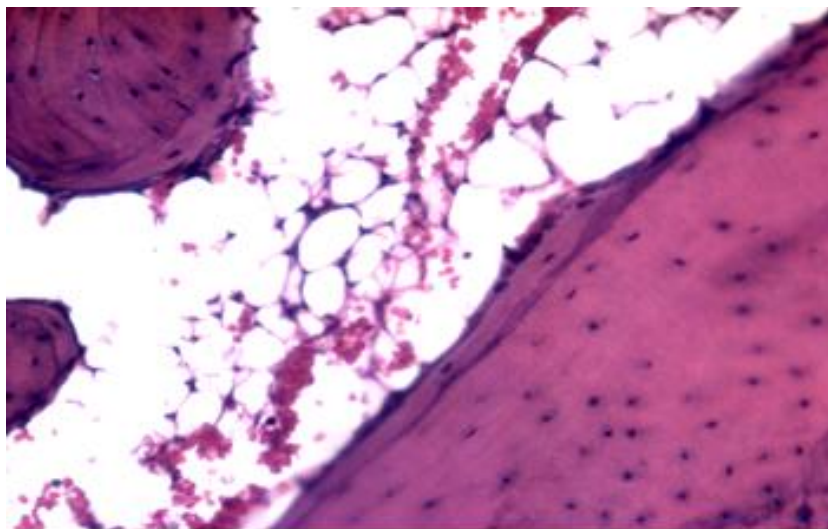


Рис. 5.14. Мікропрепарат кістки інтактних щурів.
Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 400.

На рис. 5.15, 5.16, 5.17, 5.18 представлена сполучна тканина ясен з вогнищами гістіоцитарної інфільтрації, які характеризуються великою кількістю гістіоцитів, макрофагів і полібластів, що, в свою чергу, свідчить про процес репаративної регенерації тканини.

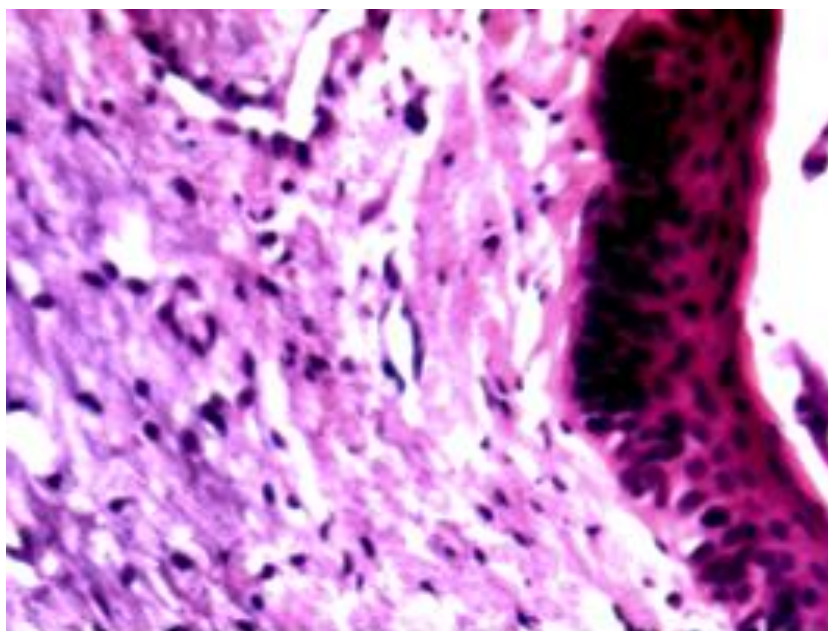


Рис. 5.15. Мікропрепарат ясен щурів з пародонтитом.
Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 400.

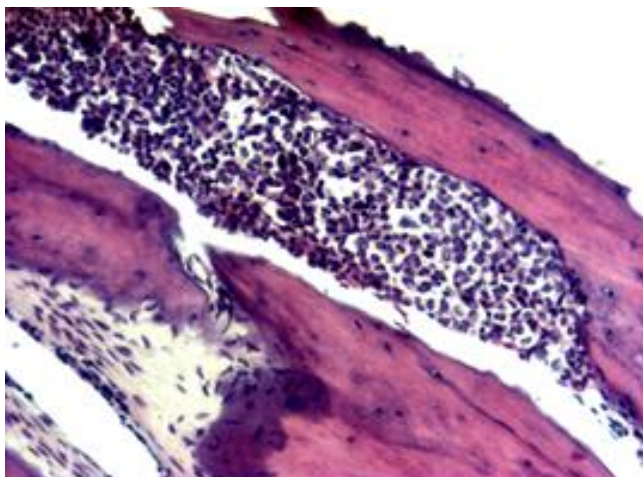


Рис. 5.16. Мікропрепарат кістки щурів з пародонтитом. Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 400.

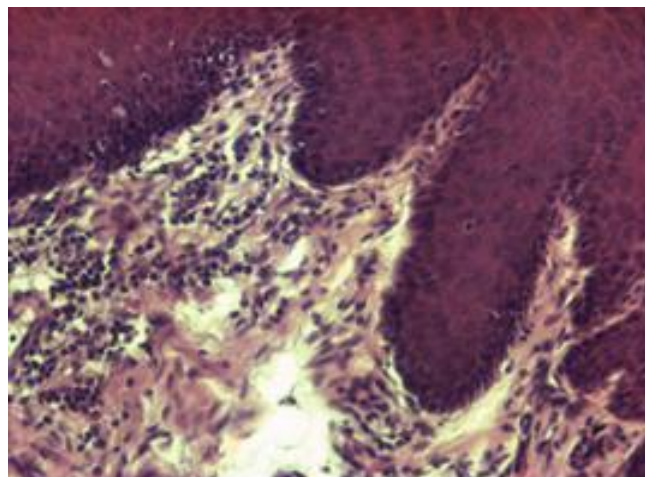


Рис. 5.17. Мікропрепарат ясен щурів з пародонтитом після введення плазми I-PRP (3 група - I термін). Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 40.

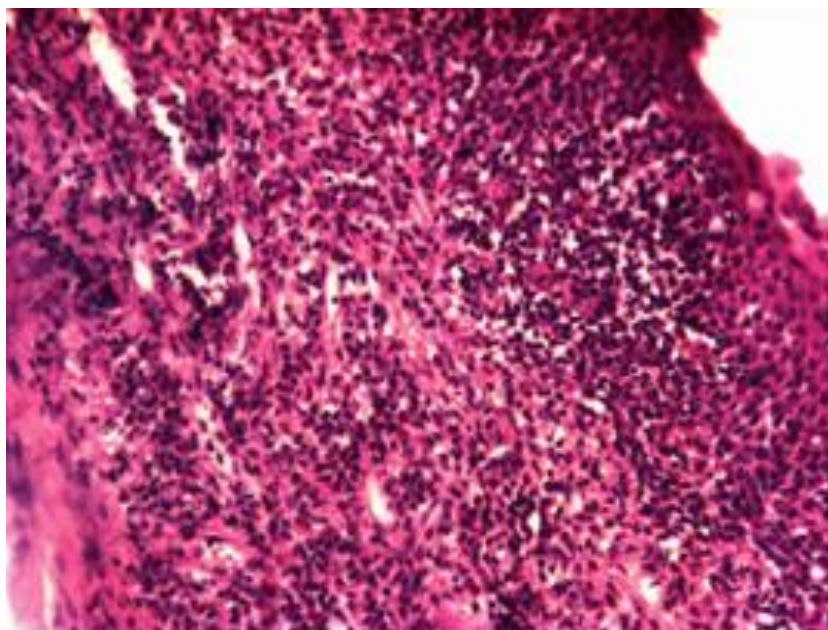


Рис. 5.18. Мікропрепарат ясен щурів з пародонтитом після введення плазми I-PRP (3 група - I термін). Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 400.

На рис. 5.19 представлена кісткова тканина верхньої щелепи щурів. Структура кістки порушена, відзначається наявність лакун в кістці, заповнених клітинно-запальним інфільтратом. Змінено структуру остеоїда. Але при цьому в полі зору видно «активні» остеобласти зі світлою цитоплазмою, що вказує на процес утворення нової кісткової тканини.

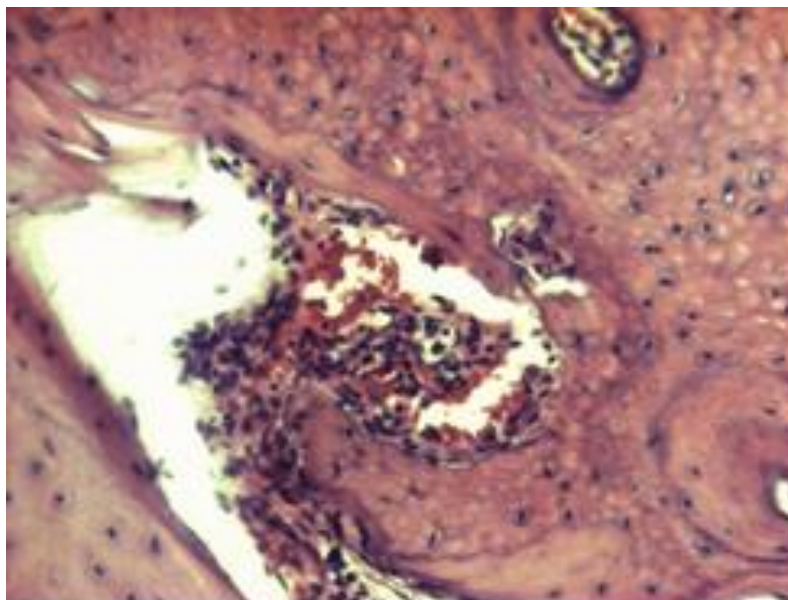


Рис. 5.19. Мікропрепарат щелепної кістки щурів з пародонтитом після введення плазми I-PRP (3 група - I термін). Забарвлення гематоксилин-еозин, збільшення x 40.

На рис. 5.20 представлено ділянку кісткової тканини з остеокластичною резорбцією. Добре видно багатоядерні (трьох- і чотирьохядерні) клітини - остеокласти і «активні» остеобласти, що підтверджує процес ремоделювання кісткової тканини - одночасну резорбцію старої кістки і формування нової кістки.

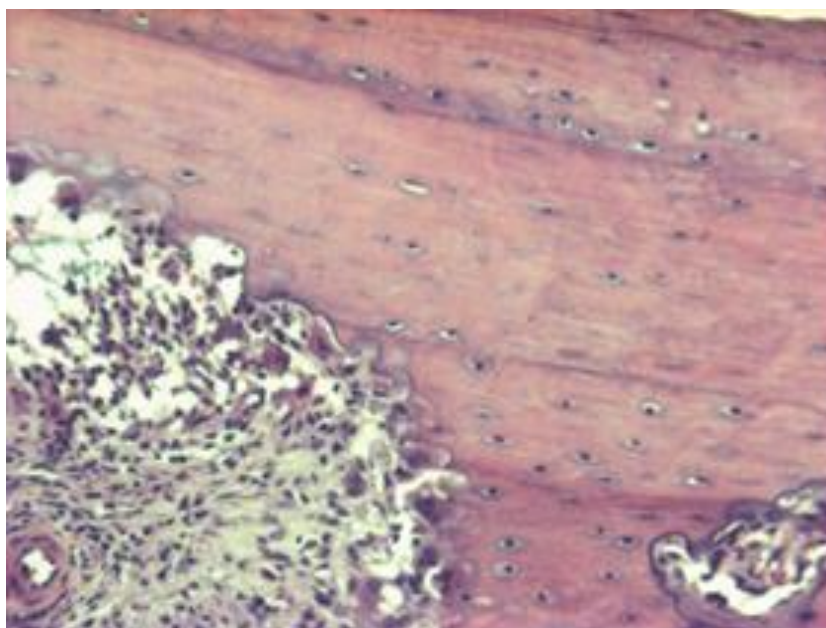


Рис. 5.20. Мікропрепарат щелепної кістки щурів з пародонтитом після введення плазми I-PRP (3 група - I термін). Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 40.

На рис. 5.21 представлений той же мікропрепарат, що і на рис. 5.20, але в більшому збільшенні (x 100). В полі зору чітко видно остеокласти.

На рис. 5.22 представлений епітелій і сполучна тканина щурів 3 групи, яким проводили евтаназію через 3 тижні після другого введення I-PRP (II термін спостереження). Епітелій в нормі, структура і шари його збережені. У сполучній тканини присутні ділянки клітинної інфільтрації, колагенові волокна збіднена. Судини мікроциркуляторного русла розширені. По центру рисунка видно проростання судин і відновлення структури сполучної тканини.

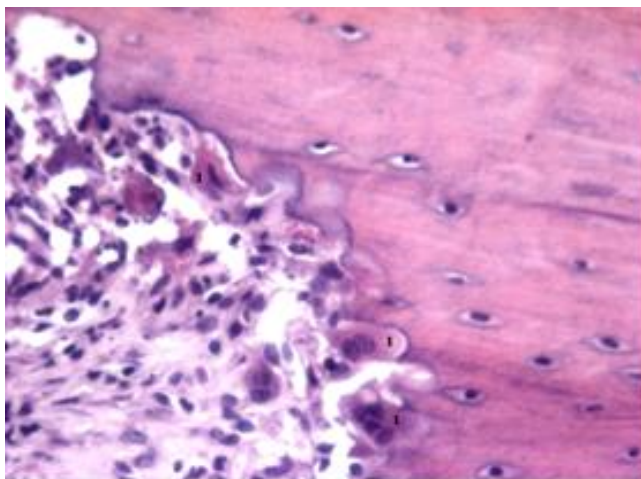


Рис. 5.21. Мікропрепарат щелепної кістки щурів з пародонтитом після введення плазми I-PRP (3 група - I термін). Цифрою 1 позначені остеокласти. Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 100.

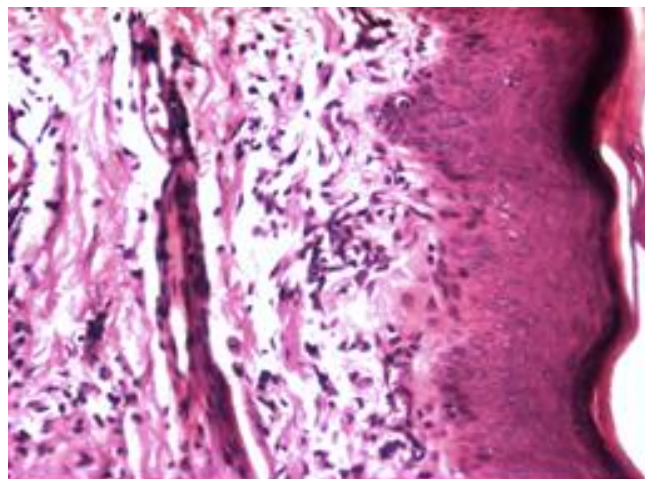


Рис. 5.22. Мікропрепарат ясен щурів з пародонтитом після введення плазми I-PRP (3 група - II термін). Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 40.

На рис. 5.23 представлена кісткова тканина щурів 3 групи. Відбувається активна регенерація кісткової тканини. В полі зору видно одиночний «відмераючий» остеокласт, рівний край кістки в порівнянні з рис. 5.23 і безліч «активних» остеобластів, що беруть участь у формуванні нової кістки.

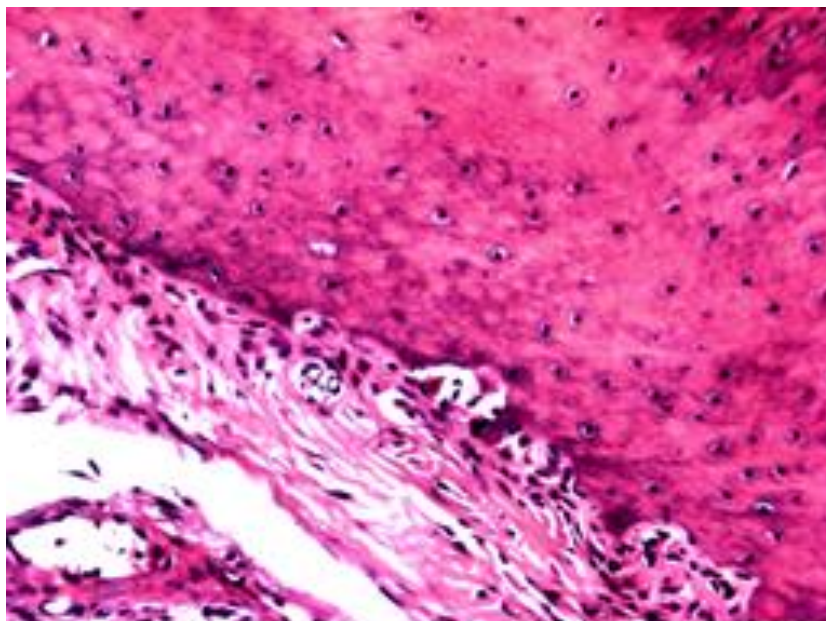


Рис. 5.23. Мікропрепарат щелепної кістки щурів з пародонтитом після введення плазми I-PRP (3 група - II термін). Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 40.

На рис. 5.24 представлені ділянки новоствореної кісткової тканини. Відзначається менша кількість «активних» остеобластів і видно замуrowані в кістку остеоцитів.

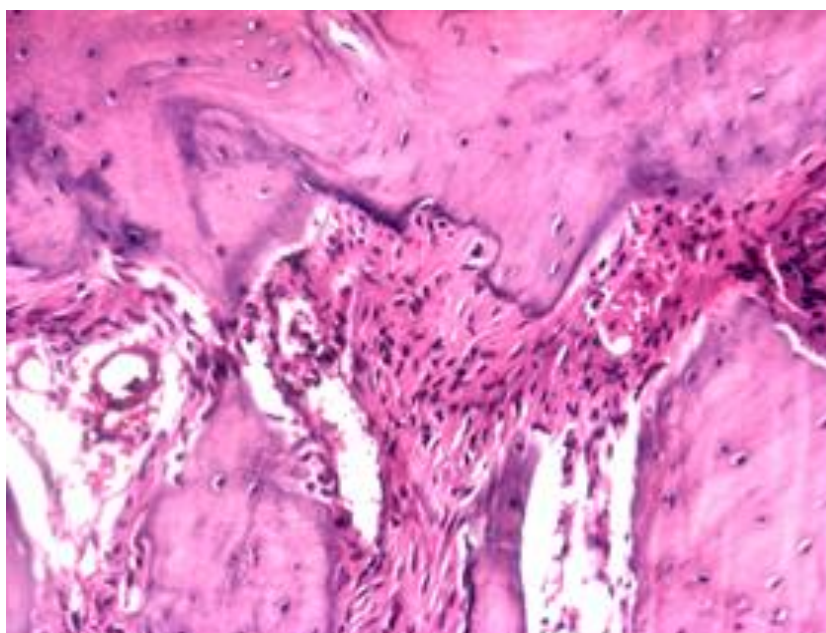


Рис. 5.24. Мікропрепарат щелепної кістки щурів з пародонтитом після введення плазми I-PRP (3 група - II термін). Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 40.

Проведені морфологічні дослідження, також як і біохімічні, показали двухфазність впливу плазми, збагаченої тромбоцитами, на тканини пародонту. У I терміні, відразу після введення плазми, відзначається активізація метаболічних процесів і початок процесу регенерації тканин: диференціювання епітеліоцитів і оновлення епітелію, репаративна регенерація сполучної тканини, активний процес ремоделювання кісткової тканини – посилення остеокластичної резорбції старої кістки і формування нової кістки.

У II терміні, через 3 тижні після введення плазми I-PRP, отримані мікропрепарати тканин, що вказують на повну регенерацію тканин пародонта, зруйнованих при моделюванні пародонтиту: нормальний епітелій; багата судинами, з відновленою структурою сполучна тканина; ділянки новоствореної кісткової тканини. Таким чином, проведені біохімічні, морфологічні та морфометричні дослідження наочно продемонстрували здатність збагаченої тромбоцитами плазми крові, при ін'єкційному введенні, викликати регенерацію тканин пародонта (епітелію, сполучної і кісткової тканини), активізувати процес ремоделювання кісткової тканини щелеп, що відкриває перспективи її широкого використання у хворих із захворюваннями пародонту і іншими деструктивними ураженнями щелепно-лицьової області. Встановлено також, що введення плазми I-PRP призводить до нормалізації процесу в системі перекисного окиснення ліпідів антиоксидантній системі (ПОЛ-АОС) шляхом зниження інтенсивності ПОЛ і активізації ферментів АО захисту.

5.3 Ефективність лікування дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК

Як показали проведені дослідження відразу ж після формування дефекту слизової оболонки ясен, кровотеча, яка виникла швидко зупинялася в

результаті формування щільного фібринозного згустку. Перша доба характеризувалася набряком тканин рани, фіброзним запаленням з незначною кількістю серозного ексудату. На другу добу в контрольній групі тварин відзначався виражений набряк навколишніх тканин, судинна гіперемія і виражена зона лейкоцитарної інфільтрації (рис. 5.25).

У тварин в групах при використанні ДАМ, ДАМ + PRP, ДАМ + PRP + ГК в ці ж терміни під мембраною визначалася щільна еластична маса, яка складалась з фібрину. Сама амніотична мембрана в ці терміни була просякнута серозним ексудатом.

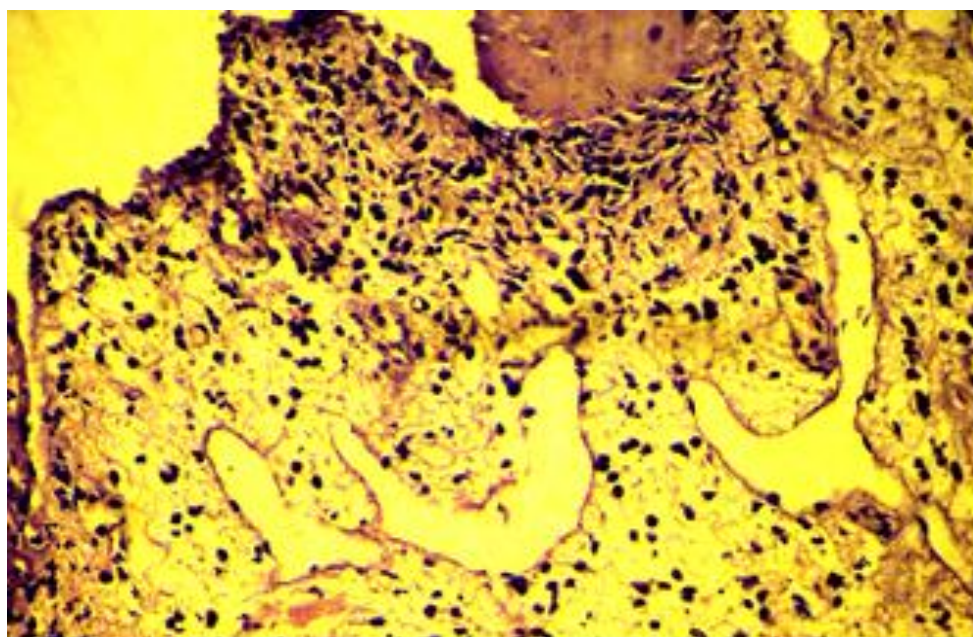


Рис. 5.25. Друга доба після моделювання дефекту м'яких тканин ясен. Зона лейкоцитарної інфільтрації поверхні рани у тварин контрольної групи. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення x 200.

На поверхні мембрани зверненої до поверхні рани також визначали фібринові згустки. На другу добу змінювався колір децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани, від матового до темно-коричневого. Навколо самої мембрани формувалася клітинний інфільтрат (рис. 5.26). Цей термін ми визначили, як початок формування фібрино-тканинного струпа за участю амніотичної мембрани.

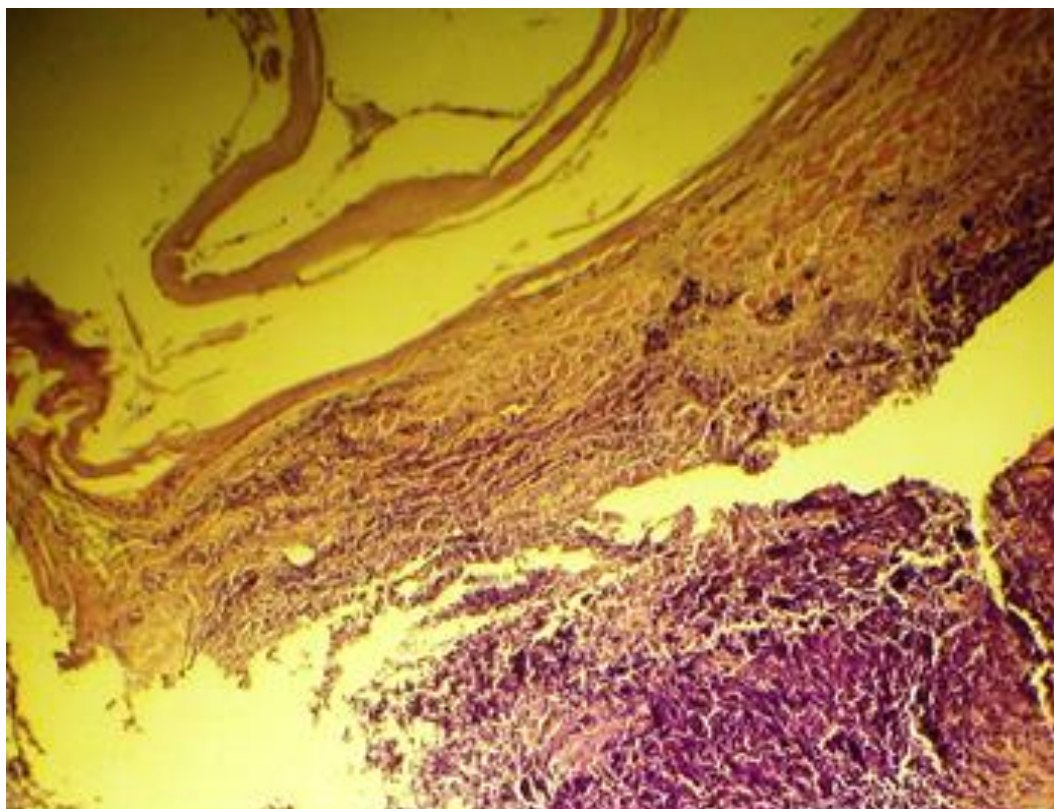


Рис. 5.26. Друга доба після моделювання дефекту м'яких тканин ясен. Зона лейкоцитарної інфільтрації навколо мембрани і поверхні рани у тварин з ДАМ + PRP + ГК. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення x 200.

На 3 добу в міру формування мембрано-фібрино-тканинного струпа спостерігалось гнійно-демаркаційне запалення, що призводило до секвестрування мембрано-фібрино-тканинного струпа. Края мембрани підводилися. Під піднятим краєм амніотичної мембрани визначались грануляційні тканини. На 4 добу у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP, а також у тварин з ДАМ + PRP + ГК метод трансиллюмінації показав наявність добре сформованої судинної мережі з наявністю великої кількості новостворених судин

(рис. 5.27). Особливо добре була розвинена судинна мережа у тварин з ДАМ + PRP + ГК.

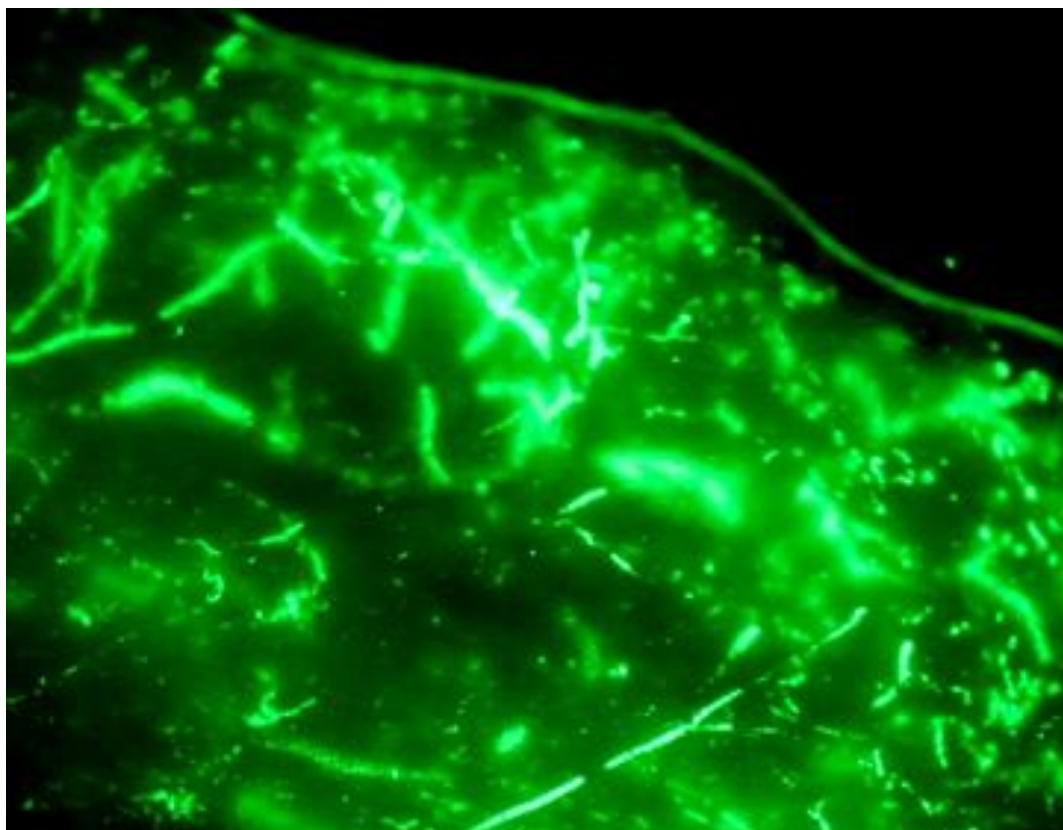


Рис. 5.27. Трансілюмінація з використанням флюорісцентних барвників. Показана добре розвинена судинна мережа з наявністю новоутворених судин у тварин з ДАМ + PRP + ГК. Термін спостереження 4 доба.

При оцінці реваскуляризації методом трансілюмінації вже на 7 добу в групі з біологічно активним матриксом, що складається з децелюляризованої амніотичної мембрани в комбінації з факторами росту PRP і гіалуроновою кислотою відзначалася добре розвинена судинна мережа з наявністю новоутворених судин різного діаметра (рис. 5.28).

Процес секвестрації мембрани супроводжувався формуванням грануляційного бар'єру з подальшим нашаруванням грануляцій, які поступово заповнювали раньовий дефект [321].

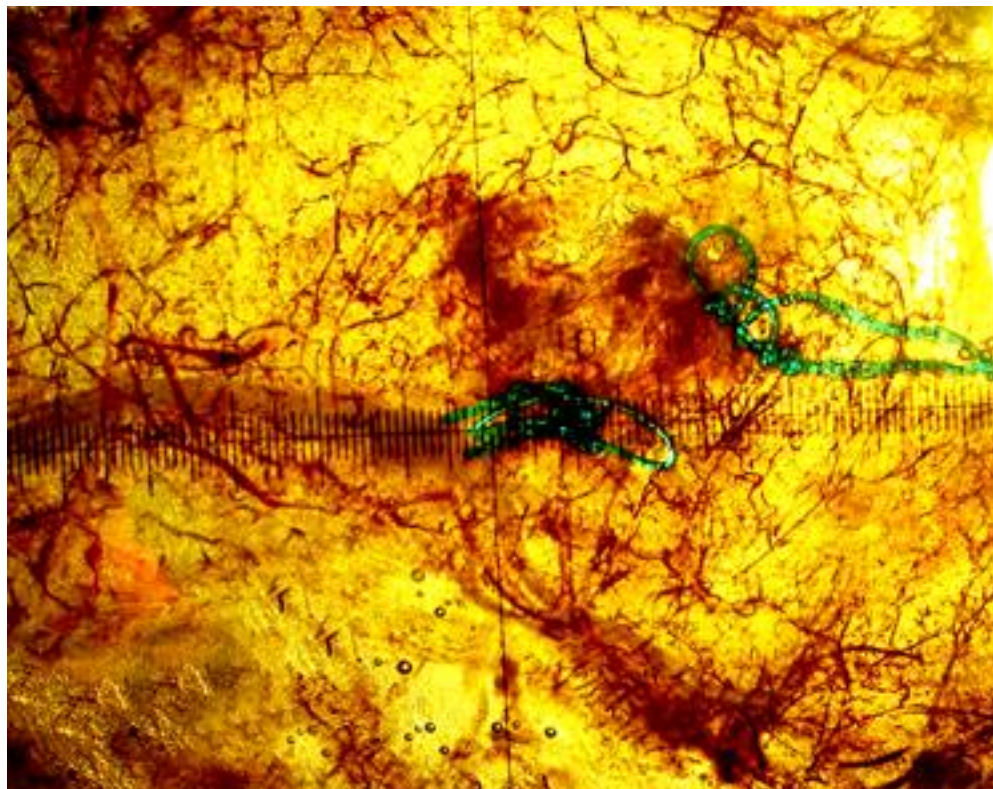


Рис. 5.28. Трансиллюмінація показала добре розвинену судинну мережу з наявністю новоутворених судин у тварин з ДАМ + PRP + ГК. Термін спостереження 4 доба. Видно фіксуючі мембрану шви.

В ході проведеного дослідження були встановлені достовірні відмінності в ефективності і швидкості загоєння ран. Зазначалося, що загоєння ран в контрольній групі проходило повільніше, характеризувалося низькою проліферативною активністю епітелію і сполучної тканини, малою кількістю судин в грануляційній тканині, більш пізніми термінами її дозрівання в порівнянні з тваринами у яких для відновлення дефекту м'яких тканин використовували ДАМ, ДАМ + PRP, ДАМ + PRP + ГК (рис. 5.29 - 5.31).

Як показало проведене дослідження відразу ж після формування дефекту слизової оболонки ясен виникло кровотеча швидко зупинялося в результаті

формування щільного фібринозного згустку. Перша доба характеризувалась набряком тканин рани, фіброзним запаленням з незначною кількістю серозного ексудату. На другу добу в контрольній групі тварин відзначався виражений набряк навколишніх тканин та судинна гіперемія. У тварин в групах з ДАМ, ДАМ + PRP, ДАМ + PRP + ГК в ці ж терміни під мембраною визначалася щільна еластична маса (рис. 5.32 - 5.34).



Рис. 5.29. Макропрепарат. Відновлення дефекту м'яких тканин альвеолярного відростка з використанням ДАМ. Термін спостереження 3 доба.



Рис. 5.30. Макропрепарат. Відновлення дефекту м'яких тканин альвеолярного відростка з використанням ДАМ + PRP. Термін спостереження 3 доба.



Рис. 5.31. Макропрепарат. Процес відторгнення мембрани у тварин з ДАМ + PRP. Термін спостереження 3 доба.

Відторгнення мембрани і формування блідо-рожевої слизової у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP, ДАМ + PRP + ГК спостерігалось в середньому на 3-5 добу (рис. 5.32), в той час, як у тварин контрольної групи струп до цього часу так і лишався на раньовій повехні.

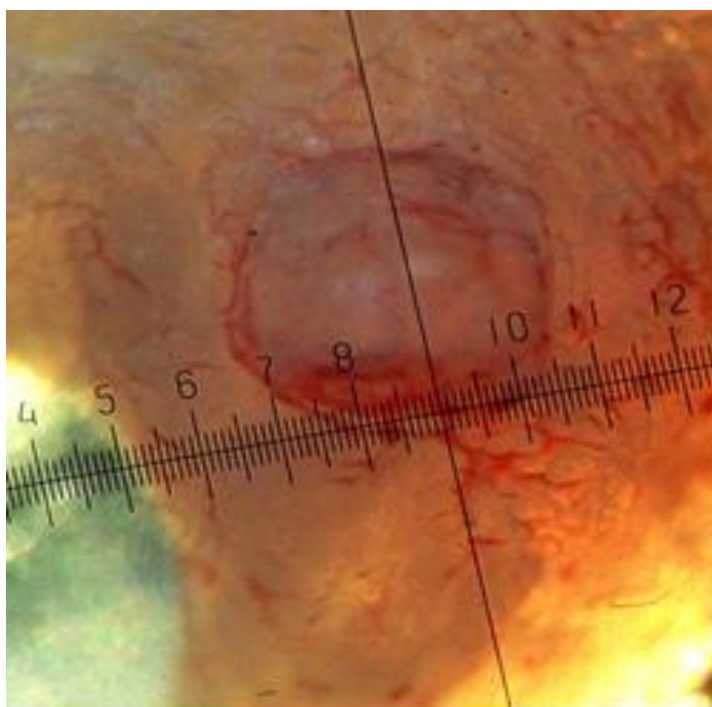


Рис. 5.32. Макропрепарат. Процес відторгнення мембрани у тварин з ДАМ + PRP + ГК. Термін спостереження 3 доба.



Рис. 5.33. Макропрепарат. Відновлення дефекту м'яких тканин альвеолярного відростка в динаміці з використанням ДАМ + PRP. Термін спостереження 5 діб.



Рис. 5.34. Макропрепарат. Відновлення дефекту м'яких тканин альвеолярного відростка в динаміці з використанням ДАМ + PRP + ГК. Термін спостереження 5 діб.

Повне візуальне загоєння ран з відновленням раньової поверхні дефекту слизової у тварин з ДАМ спостерігалось на 7 добу, у тварин з ДАМ + PRP на 5 добу, а у тварин з ДАМ + PRP + ГК на 4-5 добу (рис. 5.35).

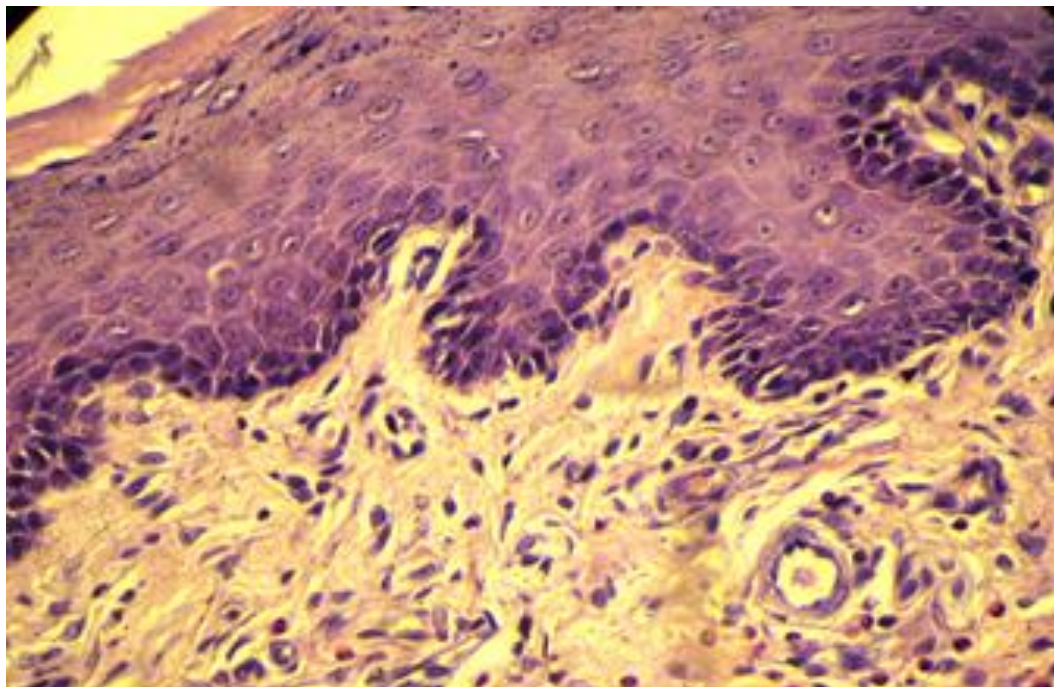


Рис. 5.35. Повне відновлення слизової альвеолярного відростка тварин з використанням ДАМ + PRP + ГК на 5 добу, фарбування гематоксилін-еозин, збільшення x 200.

При аналізі динаміки загоєння операційної рани по формулі Попової Л.Н. простежувалися такі особливості: у групі де загоєння відбувалося з ДАМ добове зменшення площі дефекту становило 6,6 % на 3 добу, 5,3 % на 5 добу, 4,8 % на 7 добу; в групі ДАМ + PRP добове зменшення площі рани становило 8,8 % на 3 добу, 6,6 % на 5 добу, 6,1 % на 7 добу; в групі ДАМ + PRP + ГК добове зменшення площі рани становило 8,8 % на 3 добу, 8 % на 5 добу, 6,6 % на 7 добу, що свідчить про те, що з 3 по 5 добу швидкість зменшення площі рани нижче, це говорить про фазу запалення (Таб. 5.1). Потім при переході до II фази раньового процесу-фази регенерації (5-7

доба) площа рани стрімко зменшувалася і до 14 діб спостерігалася повна епітелізація операційної рани у всіх групах.

Інша картина спостерігалася в контрольній групі в період з 3-ї до 5-ї доби спостерігалася зниження показника добового зменшення площі рани місцями менше 4 %, що свідчить про млявий або затяжний перебіг раньового процесу зі змінами періодів загострення і затихання зростання грануляцій та сповільненою епітелізацією. З 5 по 7 добу показник добового зменшення площі рани незначно виріс до 2,9 % (Таб. 5.1), що дає можливість припустити про перехід в фазу реорганізації рубця і остаточного формування рубцової тканини до 14 діб.

Таблиця 5.1

Добове зменшення площі операційної рани у процентному співвідношенні

Група	Контроль			ДАМ			ДАМ + PRP			ДАМ + PRP + ГК		
Число днів нагляду	3	5	7	3	5	7	3	5	7	3	5	7
Добове зменшення площі рани, %	2,2	2,6	2,9	6,6	5,3	4,8	8,8	6,6	6,1	8,8	8,0	6,6

При оцінці судинної мережі за допомогою рентгенконтрастного методу на початкових термінах дослідження картина реваскуляризації в 1 і 2 групах практично не відрізнялася. У 3 групі, з факторами зростання PRP переважала кількість дрібних судин і був дуже незначний відсоток судин середнього калібру і судини мали більш розгалужену мережу. В 4 групі процентне співвідношення судин становило: 65 % -дрібні судини, швидше за все за рахунок факторів зростання PRP, 20 % -середні і 15 % -великого калібру за рахунок додавання до складу біологічно активного матриксу гіалуронової кислоти і її властивостей гідратації (рис. 5.36).

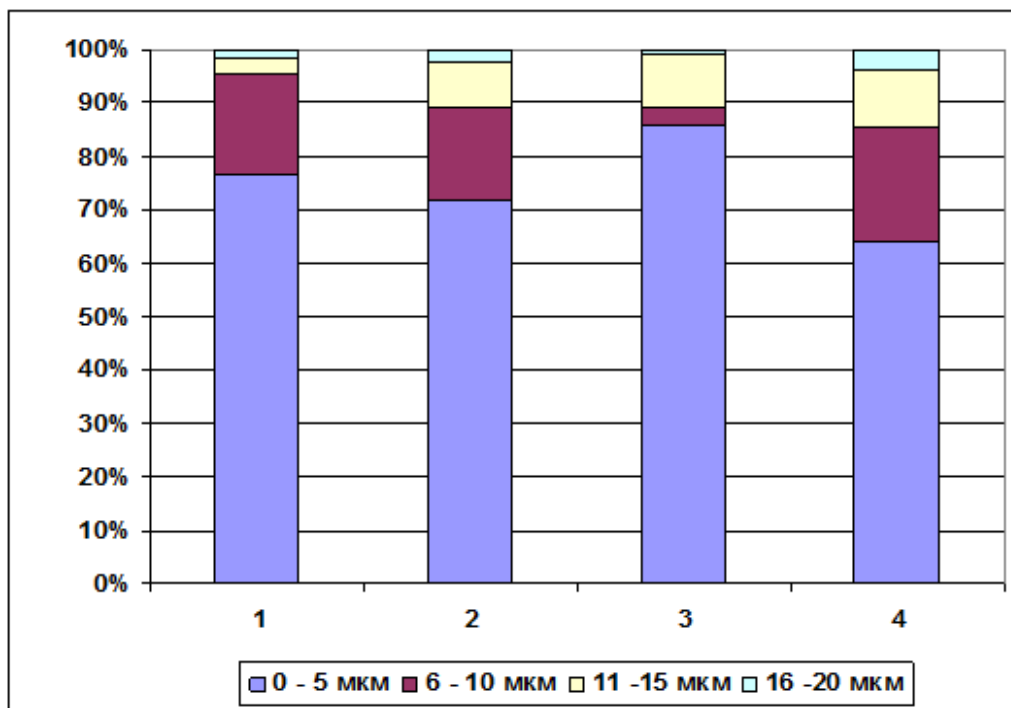


Рис. 5.36. Процентний розподіл кровоносних судин різних діаметрів, 4 доба.

Більш серйозні відмінності видно при рентгеноконтрастному дослідженні на 30 добу (рис. 5.37). На рентгенограмах макропрепаратів нижньої щелепи лабораторних тварин чітко видно, що в першій групі зовсім незначна кількість судин і вони в основному великого калібру, що говорить про відновлення кровопостачання в області дефекту слизової оболонки, але при цьому не відбулося відновлення дрібних судин, які в основному і живлять ясна (рис. 5.37).

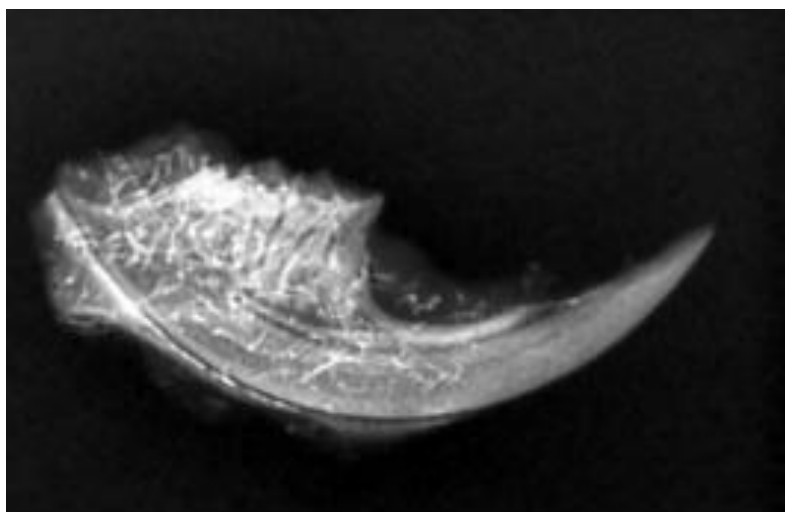


Рис. 5.37. Рентгенограма з контрастною речовиною судин слизової оболонки альвеолярного відростка на нижній щелепі щура, в контрольній групі. Термін спостереження 30 діб.

У препаратах 2, 3 і 4 групи з'ясовані судини різного калібру, що говорить про здатність стимулювати ангіогенез децелюляризованої амніотичної мембраною (рис. 5.38 - 5.40).

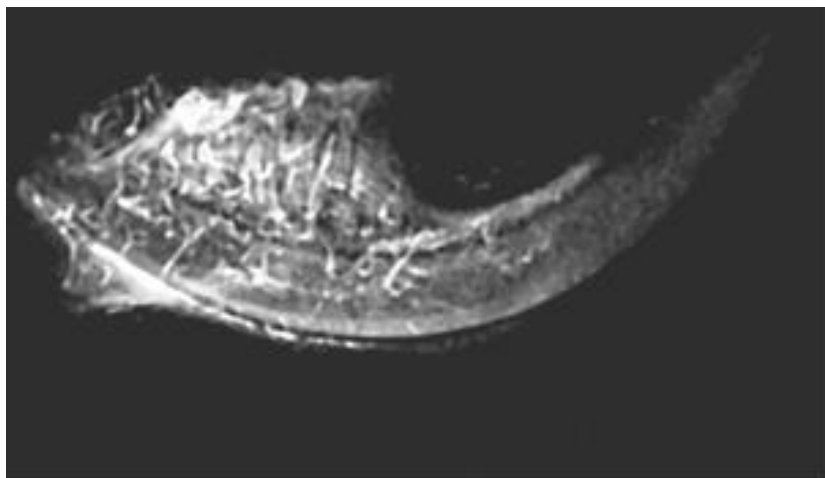


Рис. 5.38. Рентгенограма з контрастною речовиною судин слизової оболонки альвеолярного відростка на нижній щелепі щура, в групі з ДАМ. Термін спостереження 30 діб.

У 3 і 4 групах теж є відмінності, хоча вони і незначні, в четвертій групі в порівнянні з третьою судинна мережа має більш рівномірний розподіл в слизовій оболонці, що робить непомітним область, на якій раніше був дефект слизової (рис. 5.40). У третій же групі судини більше сконцентровані в області відновленого дефекту слизової (рис. 5.39).

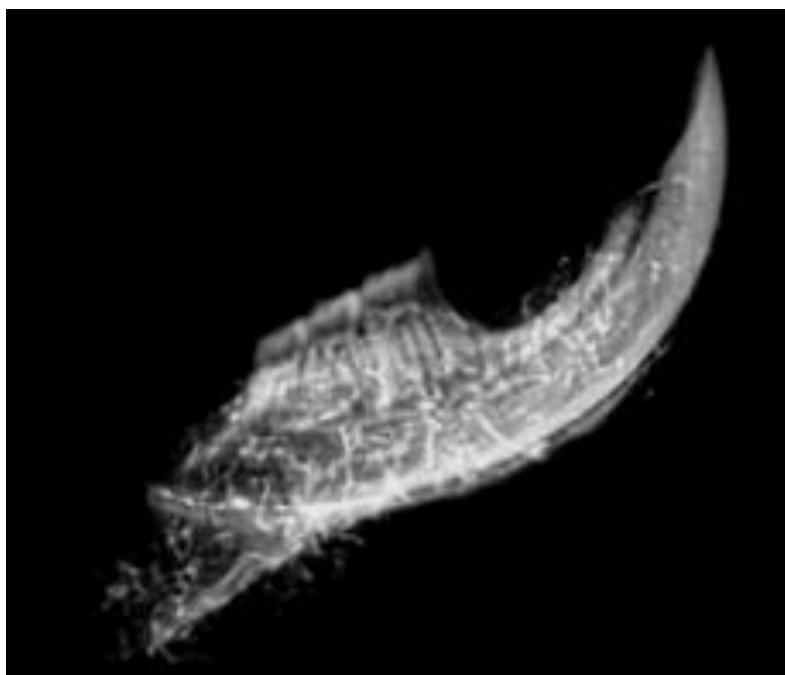


Рис. 5.39. Рентгенограма з контрастною речовиною судин слизової оболонки альвеолярного відростка на нижній щелепі щура, в групі з ДАМ + PRP. Термін спостереження 30 діб.

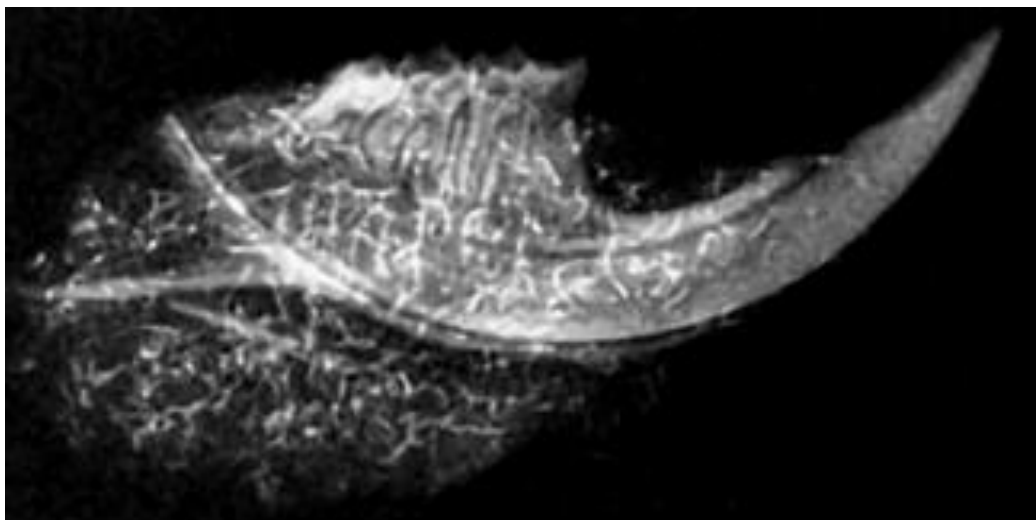


Рис. 5.40. Рентгенограма з контрастною речовиною судин слизової оболонки альвеолярного відростка на нижній щелепі щура, в групі з ДАМ + PRP + ГК. Термін спостереження 30 діб.

5.4 Інтенсивність регенерації дефекту кістки альвеолярного відростка нижньої щелепи з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК

Проведені експериментальні дослідження показали, що на рентгенівських знімках у всіх чотирьох групах на 7-й день після оперативного втручання добре видна область дефекту кістки на нижній щелепі з нечіткими краями, розміром 2,5-3 мм в області першого і другого молярів.

У першій групі на рентгенівському знімку, зробленому на 14-ту добу, визначається наявність кісткового дефекту в області коренів першого та другого молярів, розширення періодонтальної щілини. Відсутня кортикальна пластинка, видно деструкцію міжкореневих перегородок і альвеолярного відростка. На 20-й день відзначається зменшення розмірів кісткового дефекту до $1,51 \pm 0,05$ мм, $p \leq 0,001$ і формування кісткових балок. Через 2 місяці відзначається закриття дефекту кістки на нижній щелепі, відновлення міжкореневих перегородок, однак зберігається розширення періодонтальної щілини навколо першого і другого молярів (рис. 5.41).

У другій групі щурів на 14-й день також відзначається деструкція кісткової тканини на нижній щелепі в області коренів першого та другого молярів, резорбція в області фуркації першого моляра і межкорневих перегородок. На 20-у добу відзначається ущільнення кістки в області коренів другого моляра, поява кісткових балок і чіткості кісткового малюнка в області дефекту, розмір дефекту $1,23 \pm 0,03$, $p \leq 0,001$. Через 2 місяці відбувається відновлення структури кістки в області дефекту з чітким кістковим малюнком (рис. 5.42).

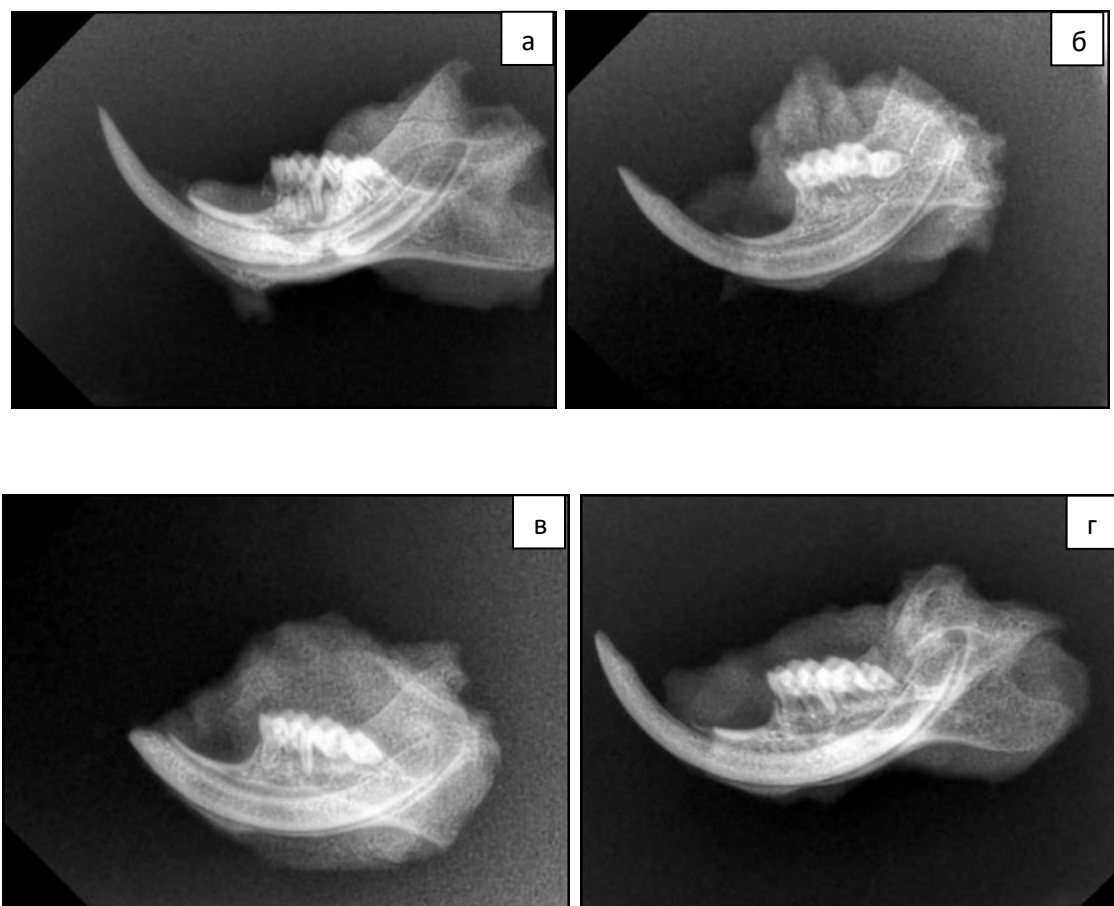


Рис. 5.41. - Етапи природної регенерації кісткової тканини після створення дефекту кістки:

а - дефект в кістці 2,5-3мм;

б - дефект в кістці з нечіткими краями;

в - поява кісткового малюнка, розмір дефекту 1,5 мм;

г - відсутність дефекту кістки, розширення періодонтальної щілини.

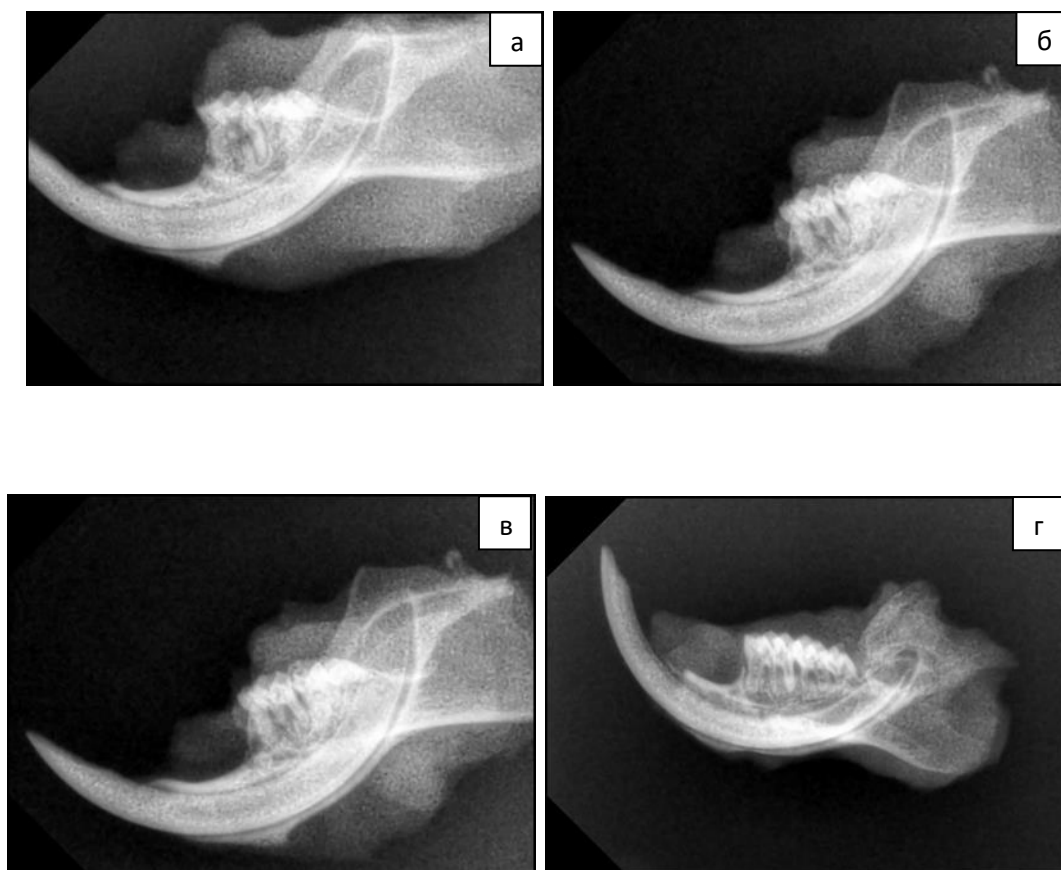


Рис. 5.42. - Етапи регенерації кісткової тканини після створення дефекту кістки із застосуванням ДАМ людини:

а - дефект в кістці 2,5-3мм;

б - дефект в кістці з нечіткими краями, наявність фуркаційних дефектів;

в - зменшення розміру дефекту до 1,3 мм, ущільнення кісткової тканини;

г - відсутність дефекту кістки, чіткий кістковий малюнок.

У третій групі на 14-ту добу на рентгенівських знімках відзначалася деструкція кістки в області дефекту, спад міжальвеолярних перегородок, а також розширення періодонтальної щілини навколо коренів першого та другого молярів. На 20-у добу відзначалося зменшення дефекту кістки до $1,08 \pm 0,03$ мм, $p \leq 0,001$, з'являвся чіткий кістковий малюнок, практично у всіх тварин збереглося розширення періодонтальної щілини в області першого і другого

молярів. Через 2 місяці видно повністю відновлена структура кісткової тканини в області дефекту, відсутні фуркаційні дефекти, відбулося відновлення міжкореневих перегородок (рис. 5.43).

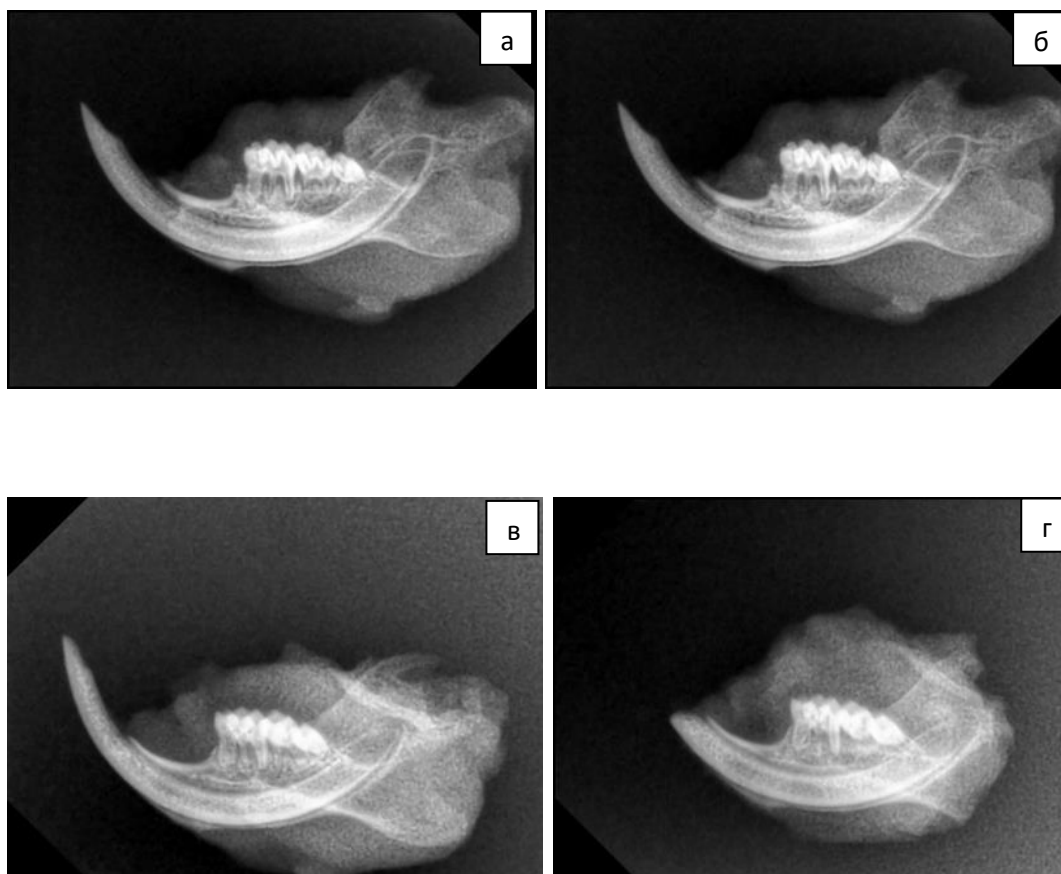


Рис. 5.43. - Етапи регенерації кісткової тканини після закриття дефекту кістки із застосуванням ДАМ + PRP:

а - дефект в кістці 2,5-3 мм;

б - дефект в кістці з нечіткими краями, спад міжальвеолярних перегородок;

в - зменшення кісткового дефекту до 1 мм, поява чіткого кісткового малюнка;

г - чіткий малюнок кісткової тканини в області дефекту, відсутні фуркаційні дефекти, відновлення міжкореневих перегородок.

У четвертій групі на 14-ту добу також як і в попередніх 3 групах зберігалася деструкція кістки в області дефекту і спостерігався спад міжальвеолярних перегородок навколо коренів першого та другого молярів. На

20-ту добу на рентгенограмі відзначався чіткий кістковий малюнок, дефект кістки був практично повністю відновлений, розмір дефекту $0,70 \pm 0,03$ мм, $p \leq 0,001$, зберігалася резорбція міжкореневих перегородок, у декількох тварин зберігалася розширення періодонтальної щілини. Через 2 місяці структура кісткової тканини в області дефекту була повністю відновлена, чітко видно сформовані міжкореневі перегородки і періодонтальна щілина першого і другого молярів (рис. 5.44).

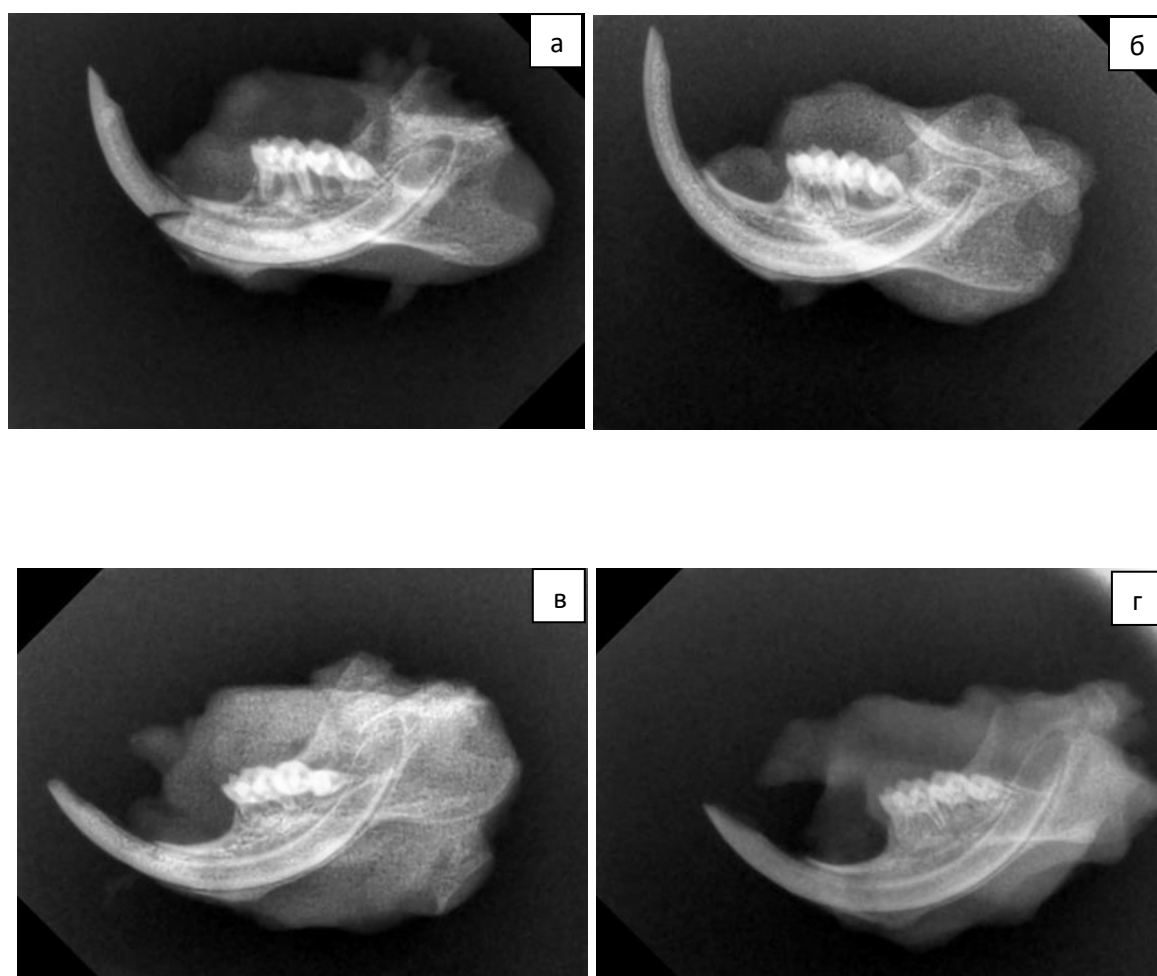


Рис. 5.44. - Етапи регенерації кісткової тканини після закриття дефекту кістки із застосуванням ДАМ + PRP + ГК:

- а - дефект в кістці 2,5-3 мм;
- б - деструкція кістки, спад міжальвеолярних перегородок в області молярів;
- в - зменшення кісткового дефекту до 0,7 мм, резорбція міжкореневих перегородок;
- г - повне відновлення дефекту кісткової тканини і міжкореневих перегородок.

Необхідно відзначити, що регенерація кісткового дефекту проходила досить успішно у всіх чотирьох групах досліджуваних тварин, але щільність кісткової тканини найбільш висока спостерігалася в групі із застосуванням для закриття дефекту кістки децелюляризованої ліофілізованої мембрани з амніону плаценти людини і PRP, а також в групі, де закриття виконували децелюляризованою ліофілізованою мембраною з амніону плаценти людини, PRP і гелем з гіалуроновою кислотою. Розмір закриття дефекту кісткової тканини вимірювали в мм і порівняння в досліджуваних групах проводили на 14 і 20 добу, найбільш скорочені терміни загоєння були в групі з ДАМ + PRP + ГК (таб. 5.2)

За результатами дослідження можна відзначити, що швидкість загоєння кісткового дефекту на 20 добу в групі, в якій використовували ДАМ + PRP склала $1,08 \pm 0,03$ мм, $p_2 \leq 0,002$, а в групі ДАМ + PRP + ГК - $0,70 \pm 0,03$ мм, $p_2 \leq 0,001$, що достовірно відрізняє швидкість закриття дефекту від групи де використовували лише ДАМ - $1,23 \pm 0,03$ мм. Достовірні відмінності спостерігаються в групі із застосуванням ДАМ при порівнянні з групою, де загоєння відбувалося природним шляхом $p_1 \leq 0,001$.

Необхідно відзначити, що регенерація кісткового дефекту проходила досить успішно у всіх чотирьох групах, але щільність кісткової тканини найбільш висока спостерігалася в групі після застосування децелюляризованої ліофілізованої мембрани з амніону плаценти людини з гелем PRP + ГК [322].

Таблиця 5.2

Добове зменшення розміру кісткового дефекту (мм)

Група тварин	Природне загоєння		ДАМ		ДАМ+PRP		ДАМ+PRP+ГК	
Термін спостереження доба	14	20	14	20	14	20	14	20
Розмір дефекту кістки, мм	2,63±0,05	1,51±0,05 $p \leq 0,001$	2,23±0,04 $p_1 \leq 0,001$	1,23±0,03 $p \leq 0,001$ $p_1 \leq 0,001$	2,08±0,02 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,002$	1,08±0,03 $p \leq 0,001$ $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,002$	1,71±0,03 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,001$ $p_3 \leq 0,001$	0,70±0,03 $p \leq 0,001$ $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,001$ $p_3 \leq 0,002$

Примітка: p (вірогідність відмінностей між 14 и 20 добою); p_1 – вірогідність відмінностей I групи; p_2 – вірогідність відмінностей II групи; p_3 - вірогідність відмінностей III групи.

5.5 Оцінка регенерації кісткової тканини на підставі морфологічних досліджень

У групі з природною регенерацією кісткової тканини на 7-й день було виявлено, що отвір частково заповнений елементами крові, на деяких ділянках в дефекті кістки були присутні елементи сполучної і грануляційної тканини. На 14-й день на тлі грануляційної тканини зазначалася наявність островців хрящової тканини. Також можна відзначити наявність в дефекті ділянок молодшої кісткової тканини. На 20-й день кістковий дефект практично повністю був закритий молодшою кістковою тканиною, в якій зазначалося хаотичне розташування кісткових балок. Через 2 місяці кістковий дефект був повністю закритий кістковою тканиною. Про наявність дефекту можна було судити по зберігаючим хаотичне розташування кістковим балкам (рис. 5.45-5.48).

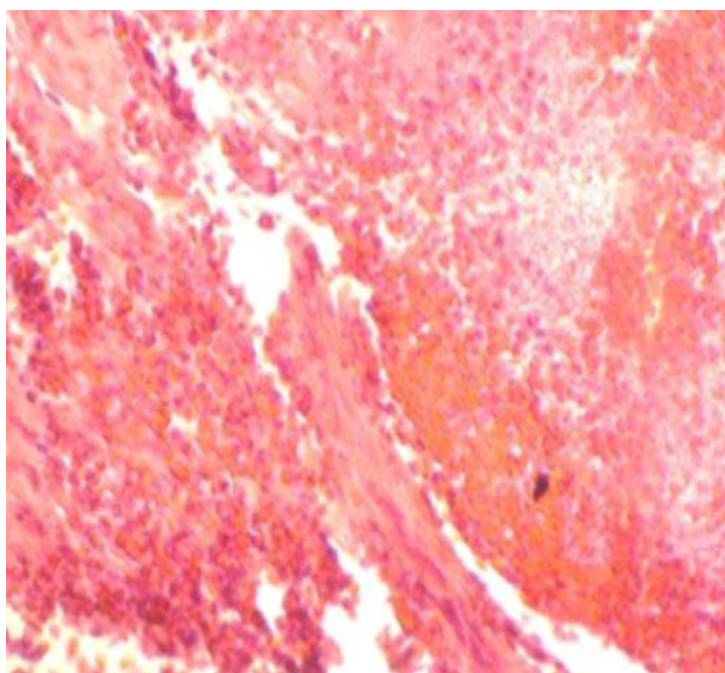


Рис. 5.45. Регенерація кісткового дефекту нижньої щелепи при природньому ході репаративного процесу 7 доба. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x 200. В полі зору велика кількість клітинних елементів крові.

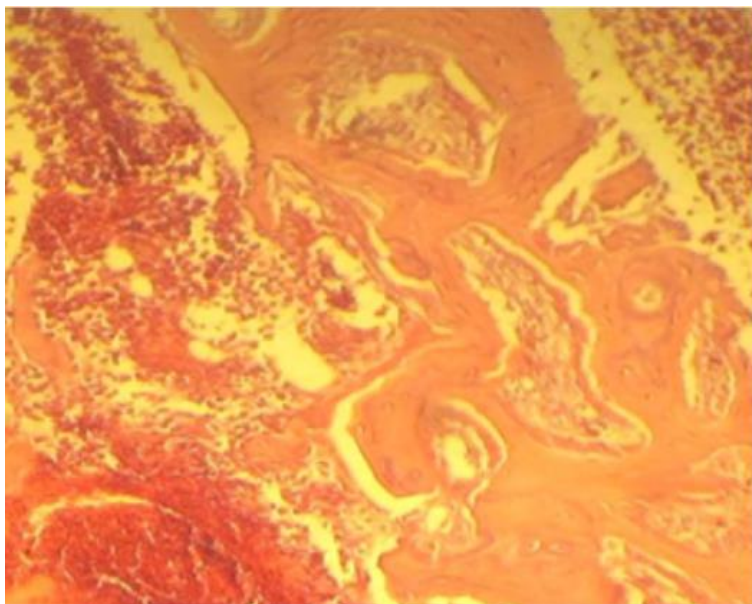


Рис. 5.46. Регенерація кісткового дефекту нижньої щелепи при природньому ході репаративного процесу 14 доба. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x 200.
В полі зору ділянки хрящової тканини.

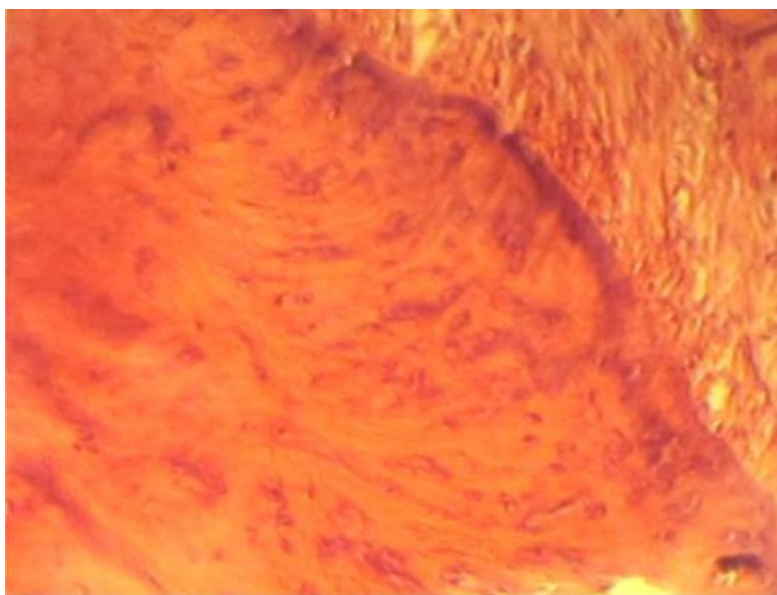


Рис. 5.47. Регенерація кісткового дефекту нижньої щелепи при природньому ході репаративного процесу 20 доба. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x 200.
В полі зору сформована кісткова тканина з судинами.



Рис. 5.48. Регенерація кісткового дефекту нижньої щелепи при природному ході репаративного процесу, 2 міс. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення $\times 200$. В полі зору сформована кісткова тканина з судинами.

При закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною (друга група) відзначався процес активної регенерації. Так як амніотична мембрана людини має гладку поверхню, добре розташовується в області дефекту кістки, заповнюючи його, то на мікропрепаратах на 7 день дослідження можна відзначити наявність частково збереженої мембрани з великою кількістю клітинних елементів крові.

На 14-й день отвір було частково закрито новоствореною кістковою тканиною з наявністю кровоносних судин по межі дефекту.

На 20-й день кістковий дефект був закритий новоствореною кістковою тканиною з великою кількістю кровоносних судин.

Через 2 місяці зазначалася наявність сформованої кісткової тканини в області дефекту (рис. 5.49-5.52)

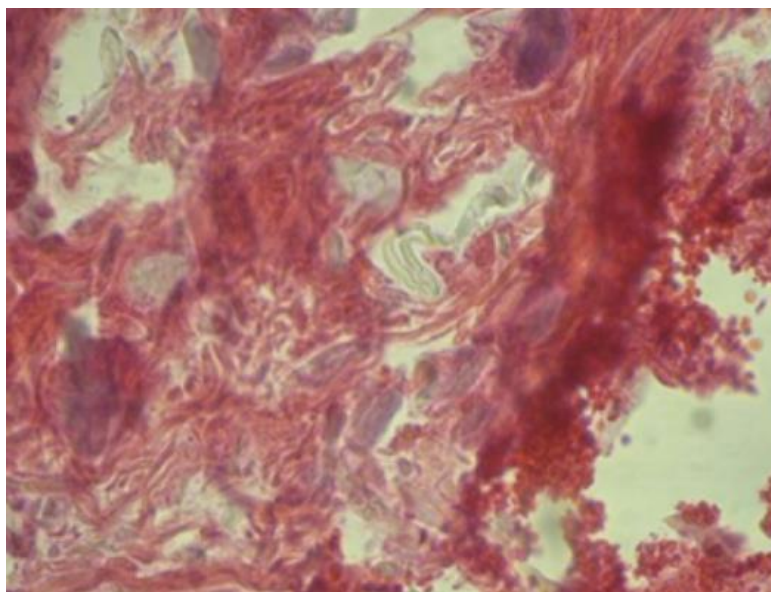


Рис. 5.49. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною. Забарвлення гематоксилін- еозин. Збільшення x 200. Амніотична мембрана з клітинними елементами крові.

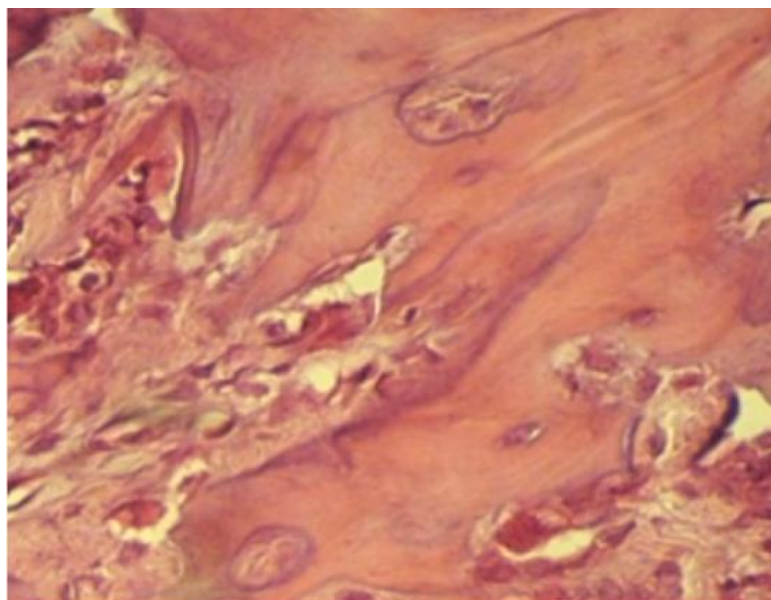


Рис. 5.50. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною. Забарвлення гематоксилін- еозин. Збільшення x 200. Багатоядерні клітини остеокласти і формуються судини.

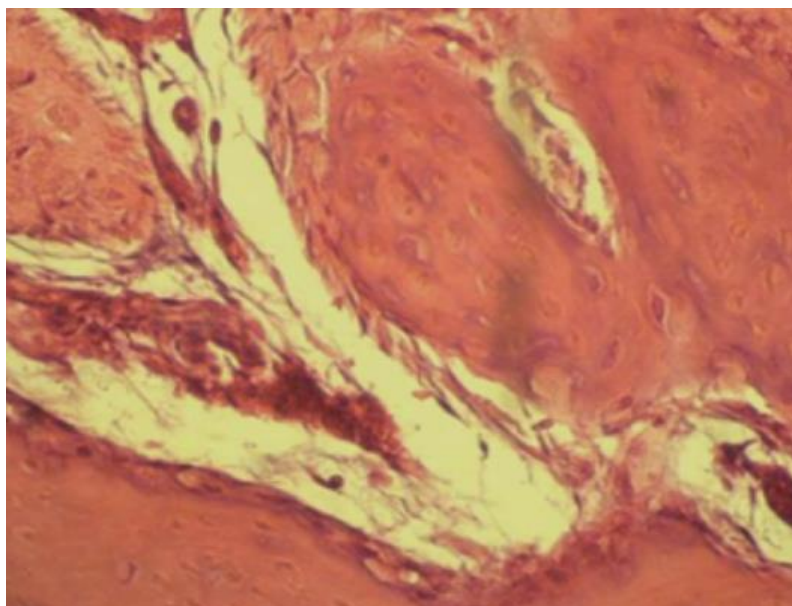


Рис. 5.51. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною. Забарвлення гематоксилін- еозин. Збільшення x 200. В полі зору велика судина і велика кількість клітин остеобластів.

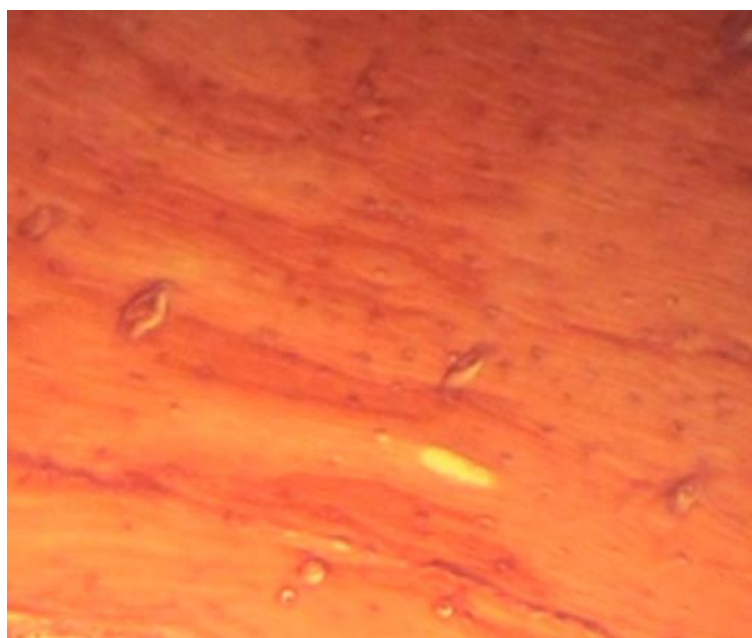


Рис. 5.52. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною. Забарвлення гематоксилин- еозин. Збільшення x 200. Сформована кісткова тканина, в полі зору остеодитів і судини.

У третій групі щурів після закриття кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною з гелем PRP вже через тиждень зазначалася наявність великої кількості ділянок новосформованої кістки, але при цьому можна було виявити і велику кількість запальних клітинних елементів.

На 14-й день дефект в кістці був закритий молодого кістковою тканиною з великим числом повнокровних кровоносних судин по краю дефекту. Клітинні елементи, що вказують на наявність запалення, були відсутні.

На 20-й день отвір в кістці було повністю закрито кістковою тканиною з хаотично розташованими кістковими балками.

Через 2 місяці, як і в інших двох групах, під час гістологічного дослідження відзначалася сформована кісткова тканина (рис. 5.53- 5.56).

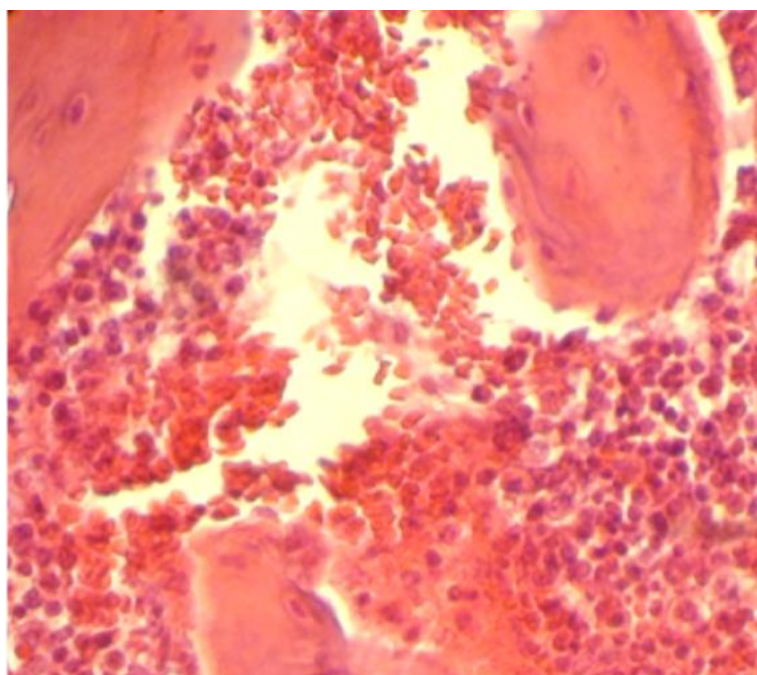


Рис. 5.53. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною з гелем PRP. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ділянки формування кістки, запальних клітин і клітин крові. Збільшення x 200.

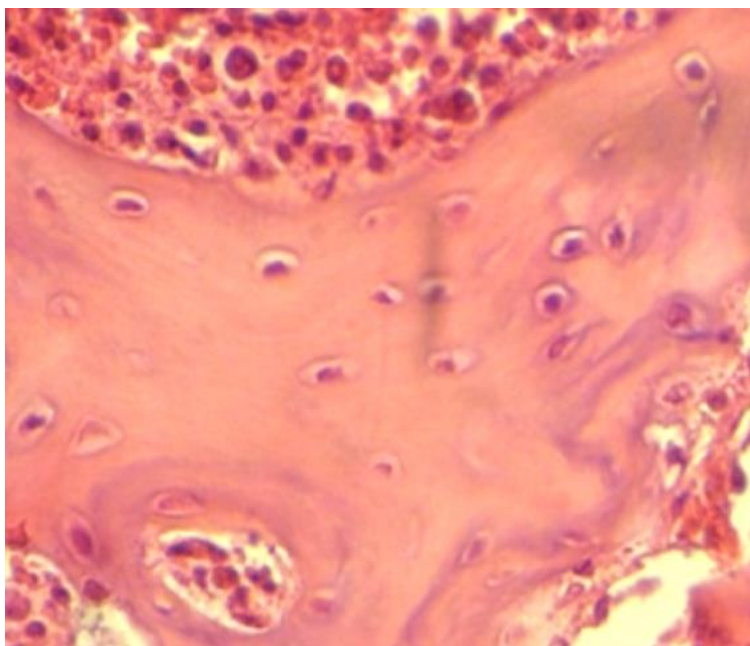


Рис. 5.54. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною з гелем PRP. Забарвлення гематоксиліном і еозином. В полі зору остеобласти і судини. Збільшення x 200.

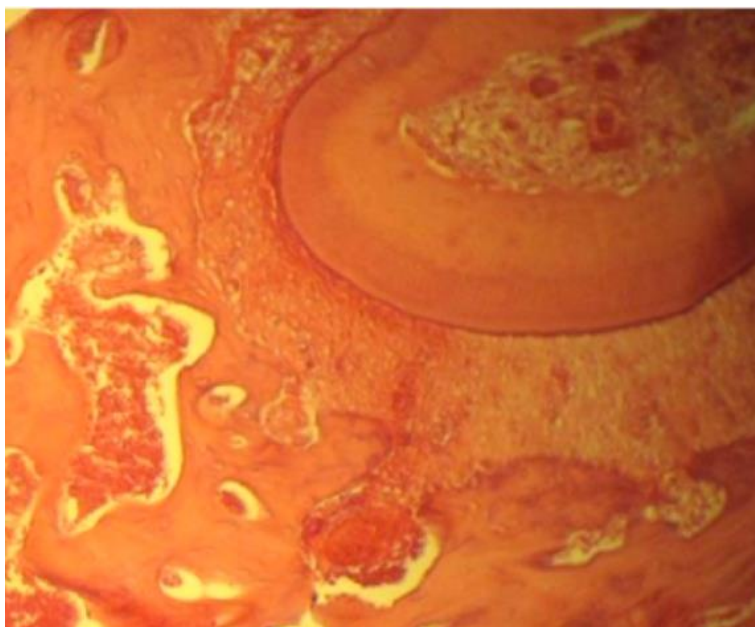


Рис. 5.55. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною з гелем PRP. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Кісткова тканина з великою кількістю кровоносних судин. Збільшення x 200.

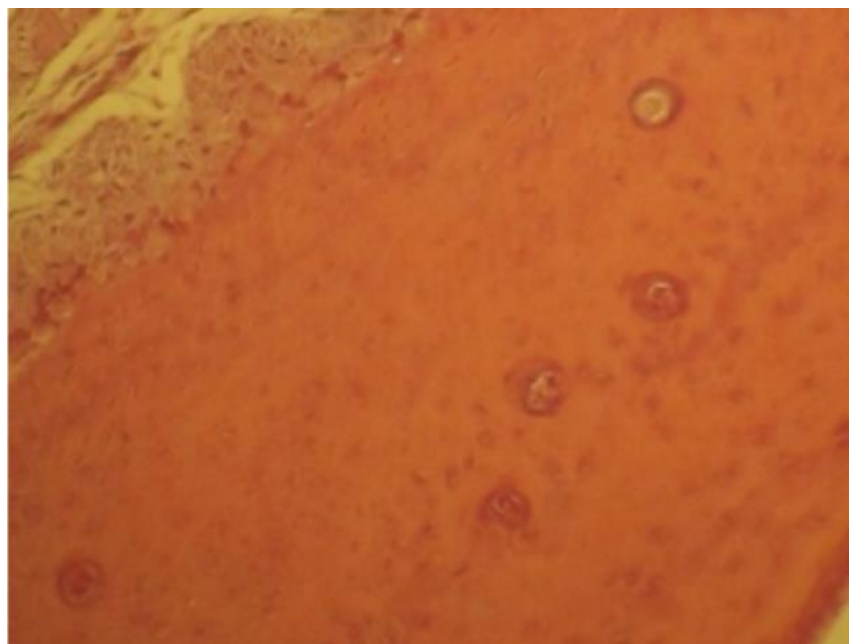


Рис. 5.56. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною з гелем PRP. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Сформована кісткова тканина. Збільшення x 200.

У четвертій групі тварин після закриття кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною з гелем PRP і гіалуроновою кислотою вже через 7 днів зазначалась наявність великої кількості ділянок «молодої» кістки, але при цьому також були присутні запальні елементи.

На 14-й день дефект в кістці був закритий знову відновленою кістковою тканиною з великою кількістю кровоносних судин.

На 20-й день отвір в кістці було повністю відновлено кістковою тканиною з сформованими судинами.

Через 2 місяці під час гістологічного дослідження відзначалася сформована кісткова тканина (рис. 5.57-5.60).

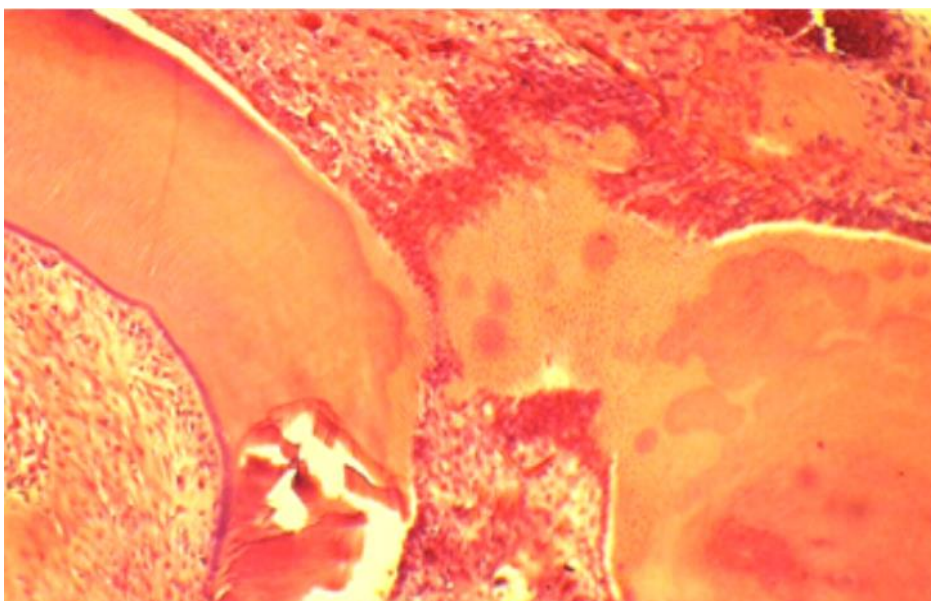


Рис. 5.57. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною з PRP та гіалуроновою кислотою, 7 доба. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x 200.

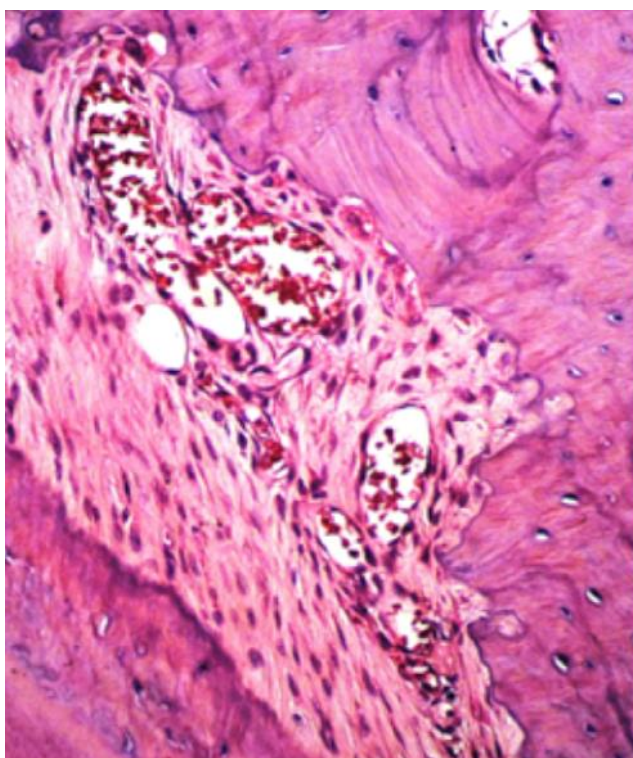


Рис. 5.58. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюляризованою ліофілізованою амніотичною мембраною з PRP та гіалуроновою кислотою, 14 доба. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x 200.

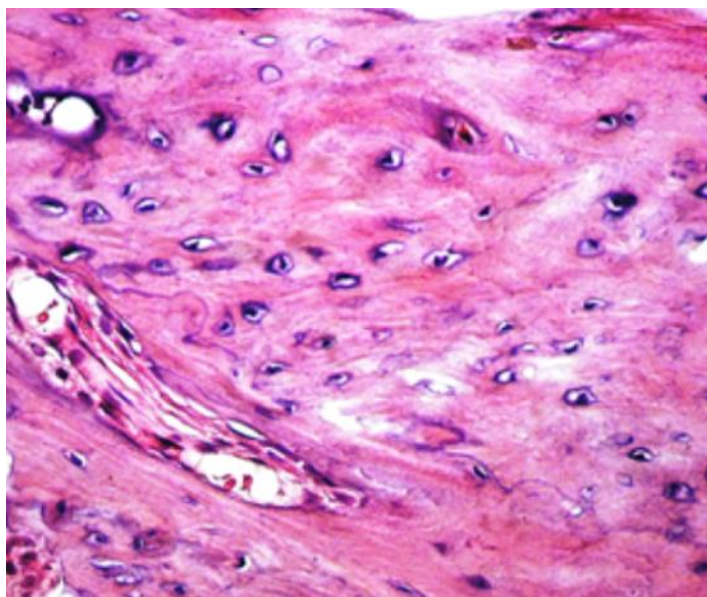


Рис. 5.59. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюлярізованою ліофілізованою амніотичною мембраною з PRP та гіалуроновою кислотою, 20 доба. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x 200.

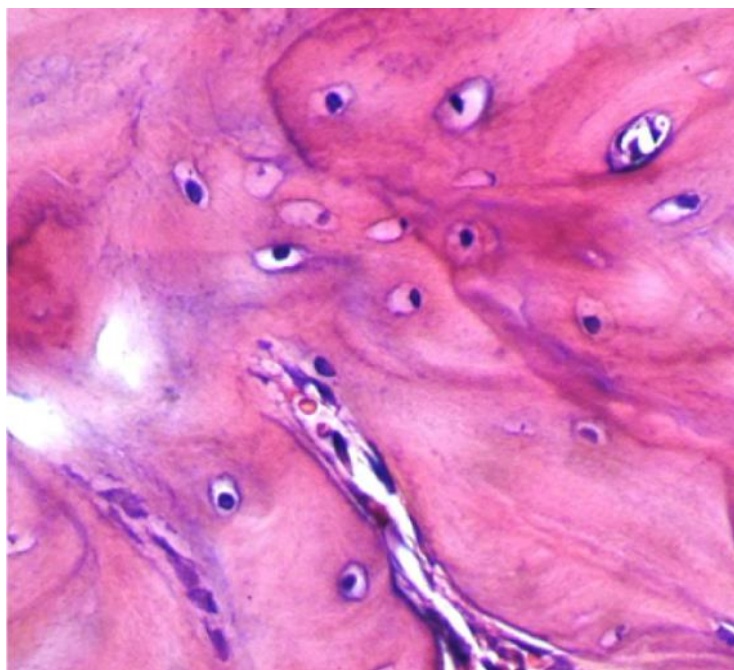


Рис. 5.60. Регенерація при закритті кісткового дефекту децелюлярізованою ліофілізованою амніотичною мембраною з PRP та гіалуроновою кислотою, 2 місяці. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x 200.

Таким чином, за результатами гістологічних досліджень можна зробити висновок, що регенерація кісткового дефекту через 2 місяці сталася у всіх

трьох групах. Але на 14-й день в першій групі, на відміну від другої і третьої груп, практично не відзначається судин. У третій групі на відміну від другої на 7-й день відзначається наявність запальних елементів, але при цьому вже виявляються ділянки новосформованої кістки, що вказує на активну регенерацію кісткової тканини [323].

5.6 Результати відновлення мукогінгівального дефекту фронтальної ділянки верхньої та нижньої щелеп з використанням ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК

Як показали результати дослідження, після видалення лігатур в перші дві доби у всіх тварин спостерігався набряк навколишніх тканин з лейкоцитарною інфільтрацією (рис. 5.61 -5.64).



Рис. 5.61. Макрофотографія загоєння дефекту в групі з ДАМ.



Рис. 5.62. Макрофотографія загоєння дефекту в групі ДАМ + PRP.



Рис. 5.63. Макрофотографія загоєння дефекту в групі ДАМ + PRP+ ГК.

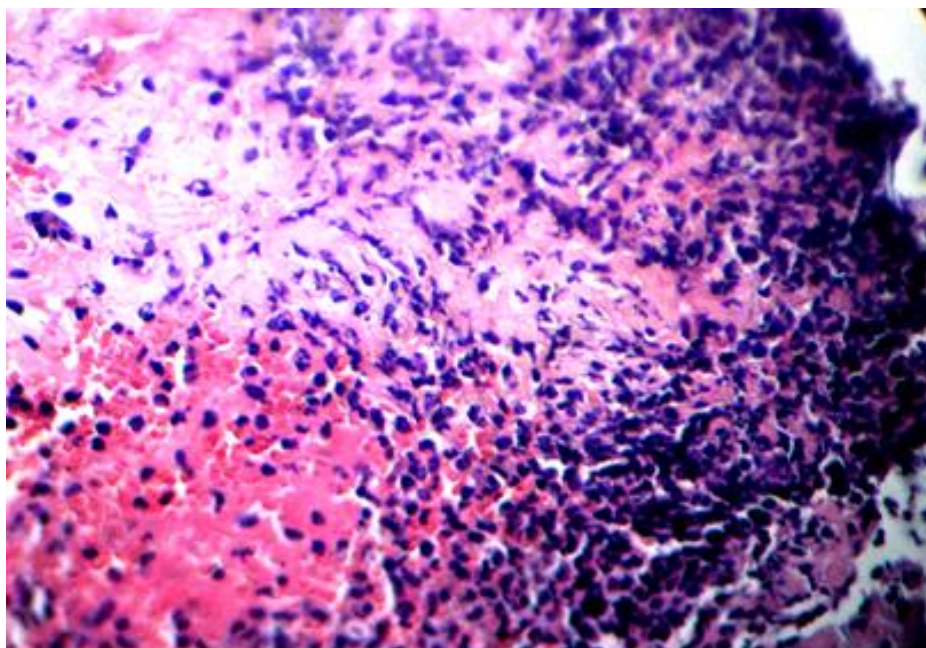


Рис. 5.64. набряк навколишніх тканин з лейкоцитарною інфільтрацією. Термін спостереження 2 доби.
Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 200.

На другу добу у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP, а також ДАМ + PRP + ГК як на зовнішній поверхні мембрани, зверненої до ротової порожнини так і в тканинах навколо мембрани було виявлено ексудативне запалення. У той же період мембрана починала зневоднюватися (рис. 5.65, 5.66). Колір мембрани почав змінюватися. Від світло-жовтого вона стала темно-коричневою.

В області дефекту слизової оболонки зберігалися деструктивні зміни, а також набряк сполучної тканини. На відміну від контрольної групи у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP, а також ДАМ + PRP + ГК спостерігався набряк в тканинах навколо мембрани і збільшення клітинних елементів через різний ступінь зрілості фібробластів (рис. 5.66).

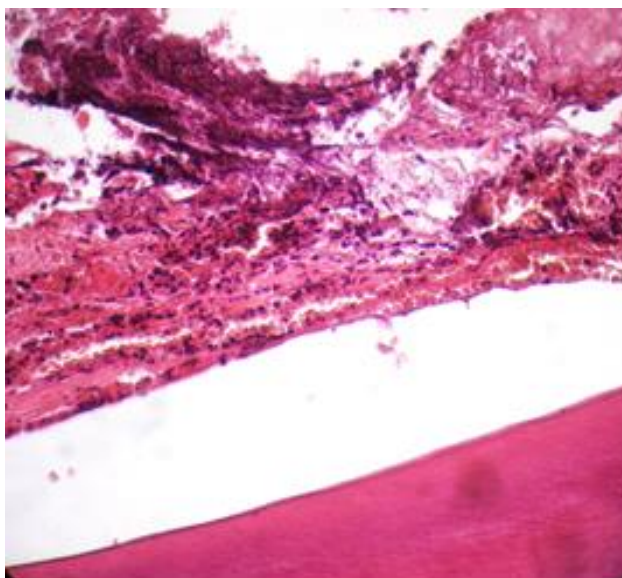


Рис. 5.65. Ексудативний набряк навколишніх тканин у тварин з ДАМ. Термін спостереження 2 доби. Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення $\times 200$.



Рис. 5.66. Друга доба після операції. Зневоднена амніотична мембрана коричневого забарвлення.

На третю добу з під краю мембрани була видна ніжна, рожева грануляційна тканина. (рис. 5.67) В ці ж терміни починався процес секвестрації мембрани, який супроводжувався утворенням грануляційного бар'єру з подальшим його збільшенням із заповненням дефекту поверхні рани.



Рис. 5.67. Процес секвестрації мембрани. Третя доба після операції.

На 4-5 добу в області дефекту слизової оболонки у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP а також ДАМ + PRP + ГК на відміну від контрольної групи спостерігалось утворення нових судин і клітинних елементів ясенного епітелію (рис. 5.68). Тут же необхідно відзначити, що вже на 4 добу кількість новостворених судин в області дефекту слизової оболонки при ДАМ + PRP + ГК було значно більше (рис. 5.69) ніж при ДАМ, ДАМ + PRP.

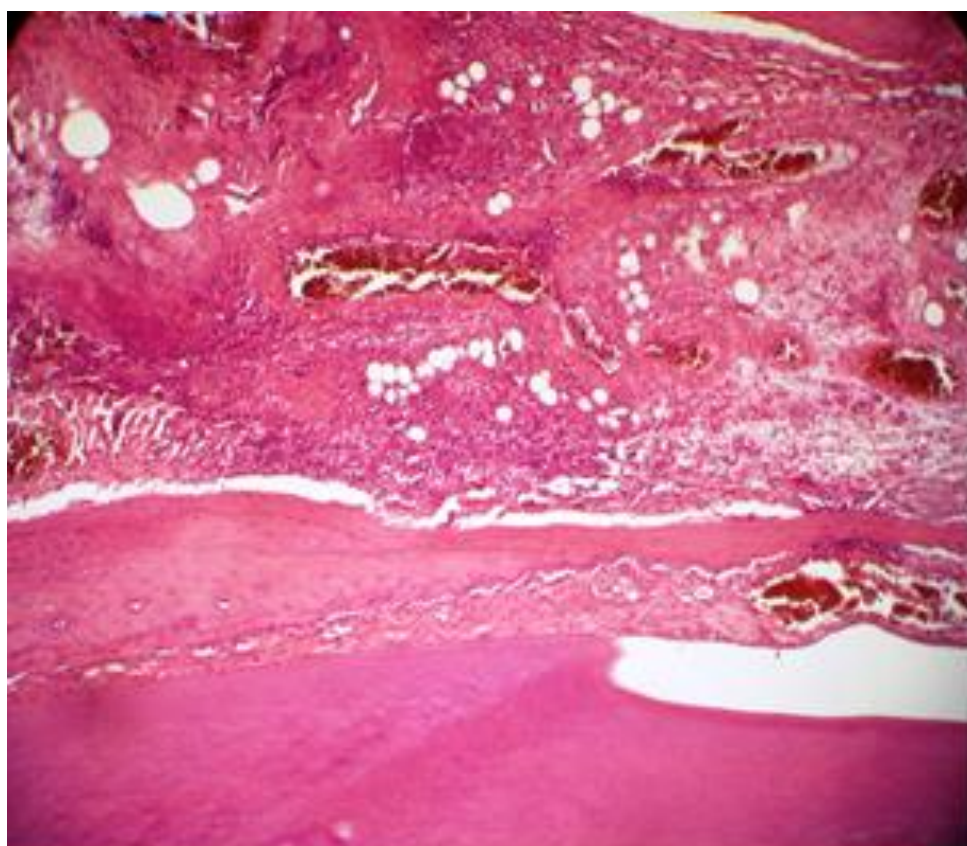


Рис. 5.68. Новоутворені судини в області мукогінгівального дефекту у тварин із застосуванням ДАМ + PRP. 4 доба після операції. Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 200.

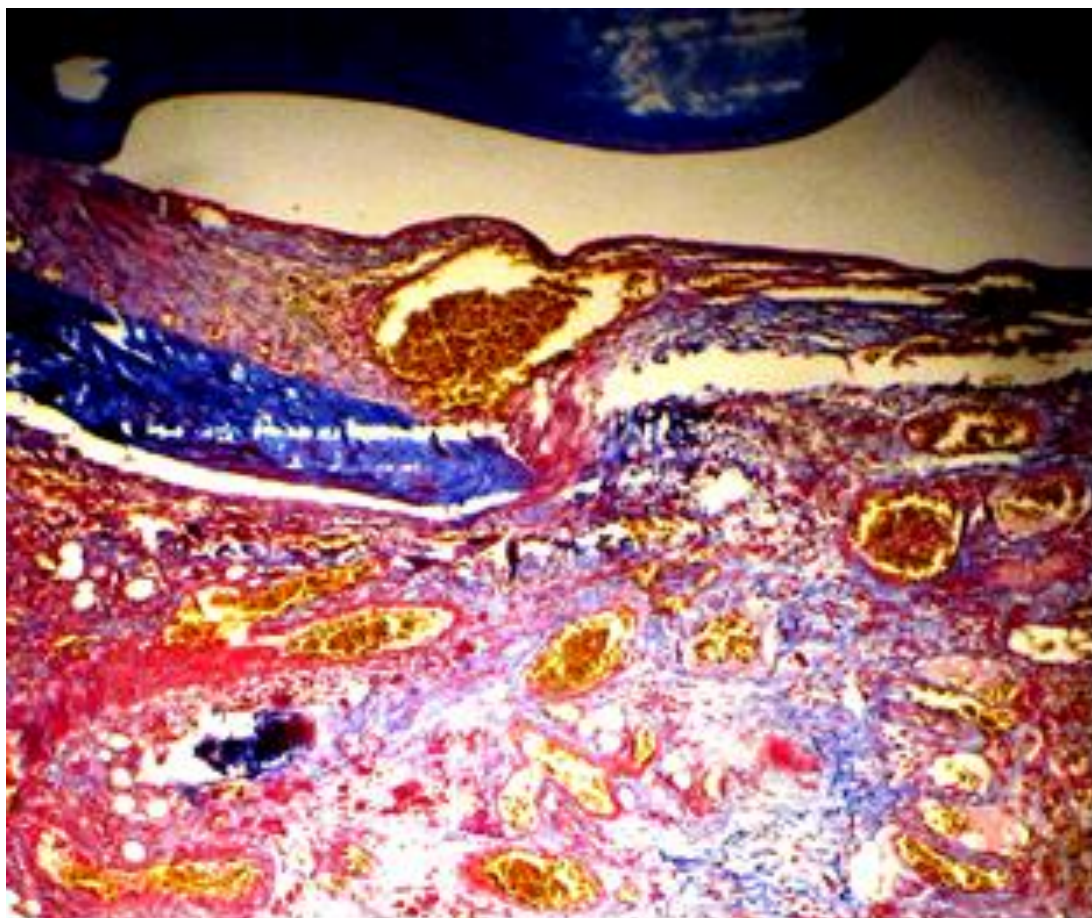


Рис. 5.69. Новоутворені судини в області мукогінгівального дефекту у тварин із застосуванням ДАМ + PRP + ГК. 4 доба після операції. Забарвлення масон-тріхромом, збільшення $\times 200$.

Вже на 7 добу на відміну від тварин контрольної групи у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP, а також ДАМ + PRP + ГК мукогінгівальний дефект не визначався, а новостворений епітелій за формою і кольором не відрізнявся від норми (рис. 5.70).

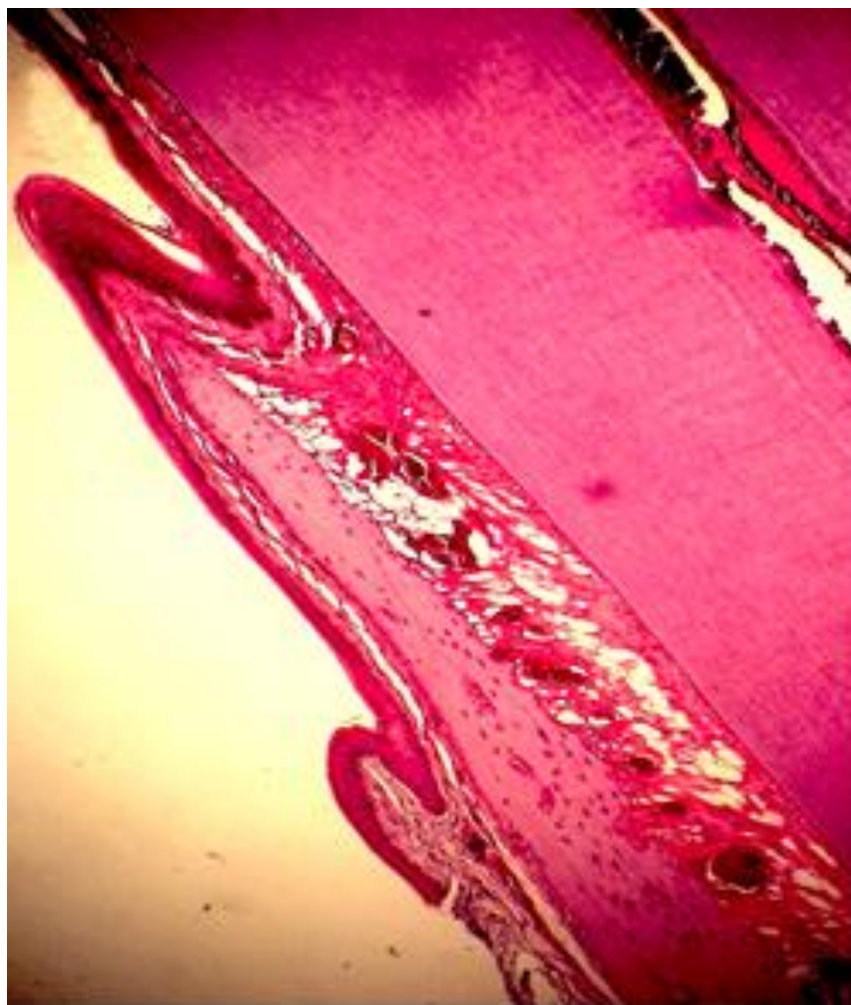


Рис. 5.70. Мукогінгівальний дефект у тварин з ДАМ + PRP + ГК не виявлявся. 7 доба після операції. Забарвлення гематоксилін-еозин, збільшення x 100.

Згладжування епітеліального шару ясен спостерігалось зі злегка вираженою кератинізацією. Методи дослідження новоствореної судинної мережі і мікроциркуляції показали, що у всіх тварин після моделювання в перші три дні спостерігалася дисфункція мікроциркуляції в області дефекту слизової оболонки. Особливо чітко ці події були визначені в контрольній групі. Після видалення лігатур і видалення некротичних тканин, що оточують лігатури в контрольній групі тварин на 4-5 добу було виявлено

зменшення відсотка судин діаметром менше 10 мікрон, що призвело до збільшення відсотка судин діаметром більше 10 мкм (рис. 5.71-5.72).

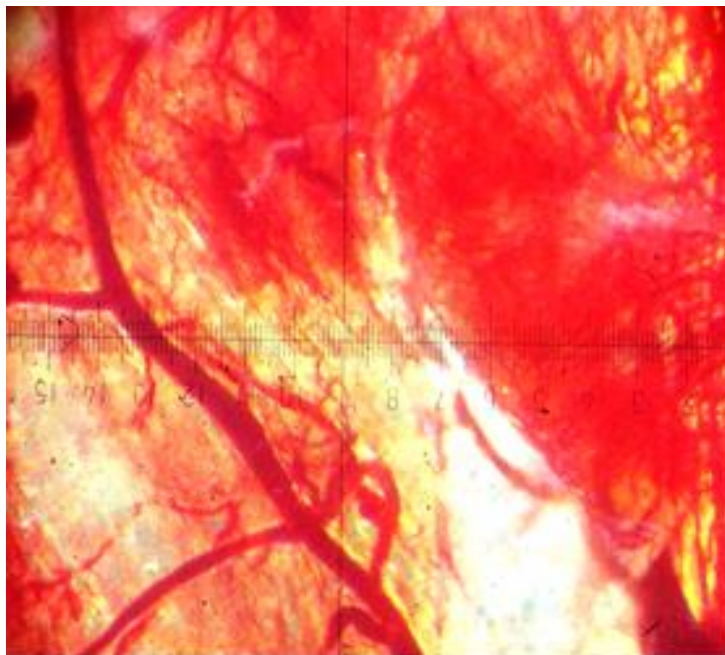


Рис. 5.71. Новостворені судини в області мукогінгівального дефекту у тварин контрольної групи. Метод трансілюмінації судин. 4 доба після операції.

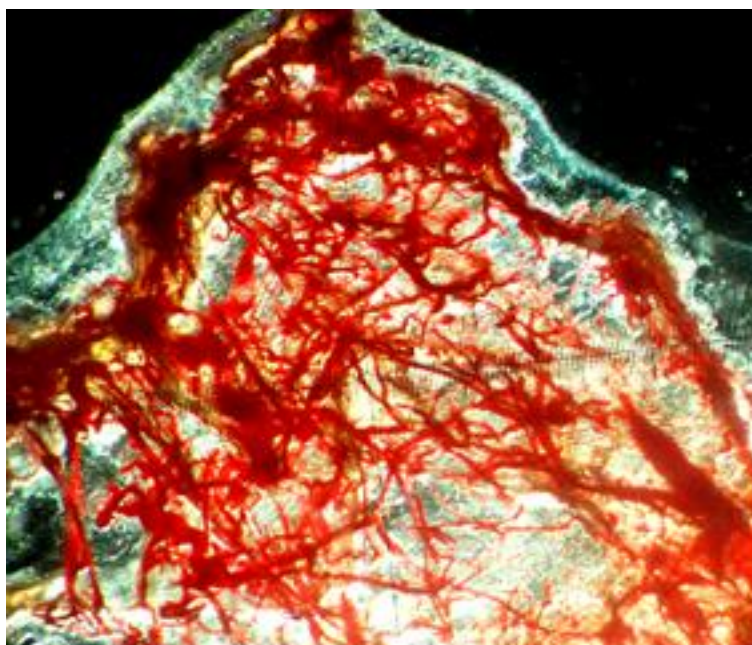


Рис. 5.72. Новостворені судини в області мукогінгівального дефекту у тварин контрольної групи. Метод трансілюмінації судин. 7 доба після операції.

На 7 добу загальне зменшення щільності діаметрів судин спостерігалось в основному в судинах діаметром від 6 до 10 мкм. Через 14 днів епітелій ясен не відрізнявся від нормального. Зовсім інша картина спостерігалася у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP. Вже на другу добу спостерігалось зменшення відсотка судин діаметром менше 10 мікрон, що призвело до збільшення відсотка судин діаметром більше 10 мкм. На 3-4 добу загальне зменшення щільності діаметрів судин спостерігалось в основному в судинах діаметром від 6 до 10 мкм (рис. 5.71). Найбільш хороші результати відзначалися у тварин з ДАМ + PRP + ГК. Вже на 7 добу в області мукогінгівального дефекту спостерігалася добре розвинена судинна мережа з безліччю новостворених судин (рис 5.73). На 7 добу новостворений епітелій за формою і кольором не відрізнявся від норми (рис. 5.74).

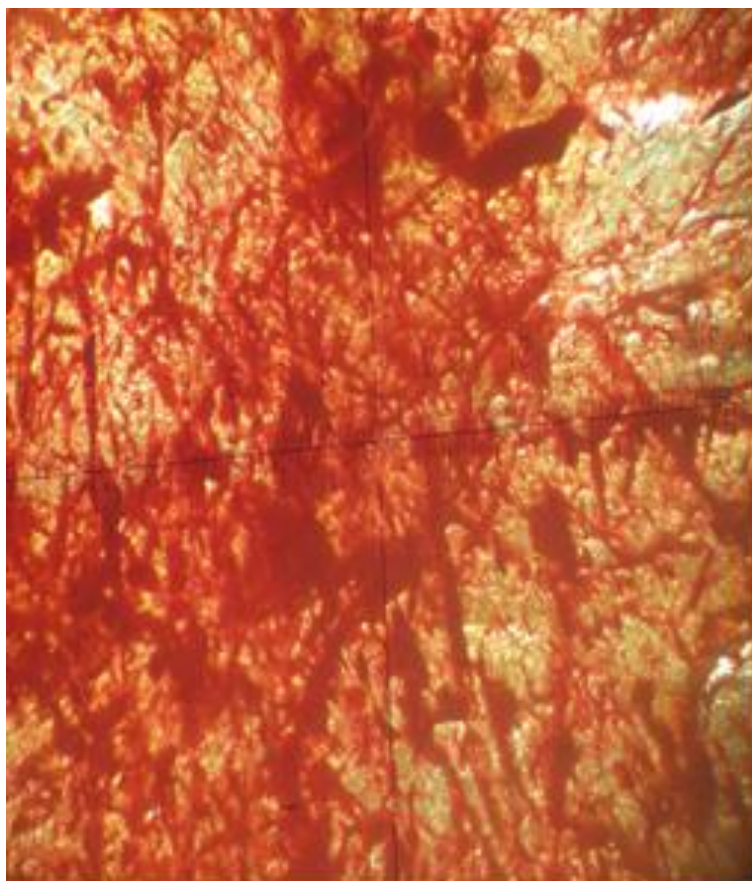


Рис. 5.73. Новостворені судини в області мукогінгівального дефекту у тварин з ДАМ + PRP. Метод трансїлюмінації судин. 7 доба після операції.

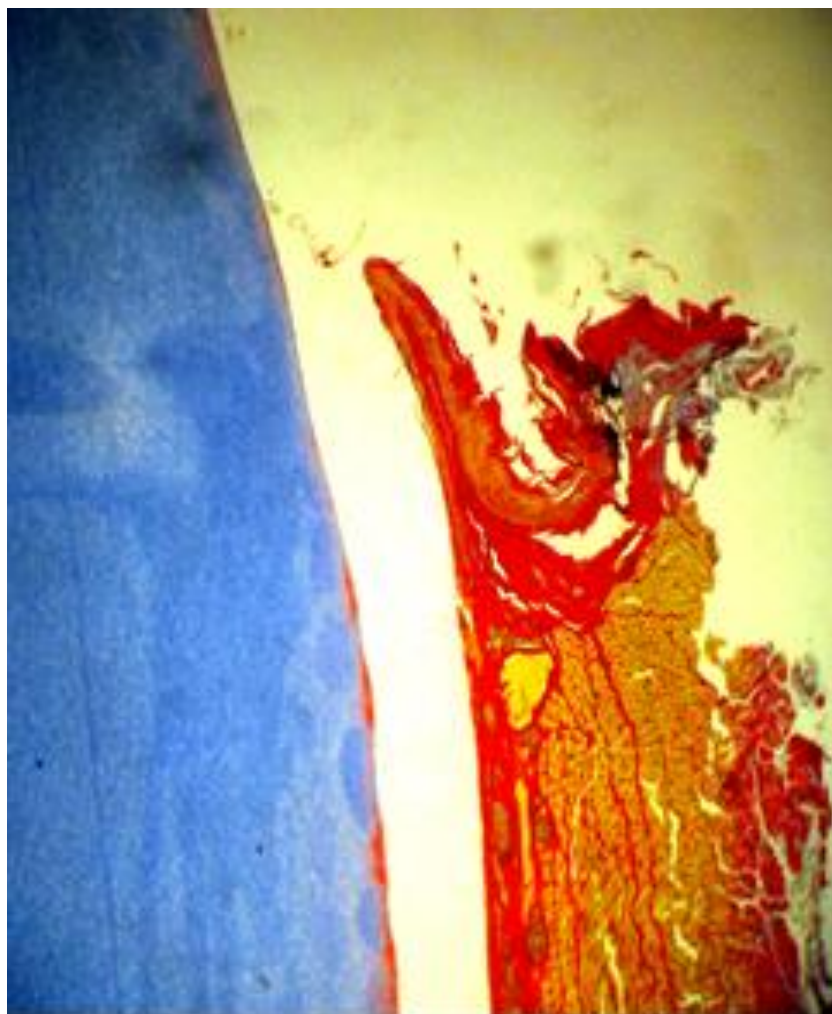


Рис. 5.74. Мукогінгівальний дефект у тварин з ДАМ + PRP не виявлявся. 7 доба після операції. Забарвлення масон-тріхромом, збільшення $\times 100$.

Порівнюючи щільність мікросудин в тканинах у лабораторних тварин після застосування ДАМ, ДАМ + PRP і ДАМ + PRP + ГК в різні терміни після операції показали, що формування мікросудин, стимульоване ДАМ + PRP + ГК, було набагато більше, ніж при застосуванні ДАМ або ДАМ + PRP. Це було пов'язано з активною специфічною синергічною взаємодією між ГК, тромбоцитарними факторами росту PRP і ДАМ, що призводило до стимуляції ангиогенезу і утворення нових судин. Ми припустили, що

фрагментовані продукти деградації ГК і фактори росту вивільнені з екстрацелюлярного матриксу децелюляризованої амніотичної мембрани, а також з PRP сприяють посиленню ангиогенезу.

5.7 Ефективність лікування дефекту пародонтальних тканин методом застосування плазмогеля з тромбоцитарною аутоплазмою і геля з високим вмістом гіалуронової кислоти

Гістологічні дослідження проводили для оцінки регенеративних можливостей плазмогелю та препарату гіалуронової кислоти. Тварини були розділені на 3 групи по 12 тварин в кожній, експериментальними тваринами вибрані щури лінії Вістар, стадного розведення, обох статей, 3 місячного віку, вагою 250-300г.

У першій групі ($n = 12$, 6 самців і 6 самок) після зняття лігатури проводили обробку ясен марлевым тампоном змоченим 0,9 % розчином NaCl, 2 рази з інтервалом в 7 днів.

У другій групі ($n = 12$, 6 самців і 6 самок) лікування проводили нанесенням на ясна плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми, 2 рази з інтервалом в 7 днів.

В третій групі ($n = 12$, 6 самців і 6 самок) з лікувальною метою наносили препарат гіалуронової кислоти (ГК) на ясна у вигляді аплікацій по 0,2 мл, 2 рази з інтервалом в 7 днів.

У першій експериментальній групі у власній пластинці слизової оболонки ясен визначається слабо виражені ознаки хронічного запального процесу, виявлено фіброзування строми (рис. 5.75) з формуванням щільних пучків колагенових волокон, забарвлюються по Маллорі в синій колір.

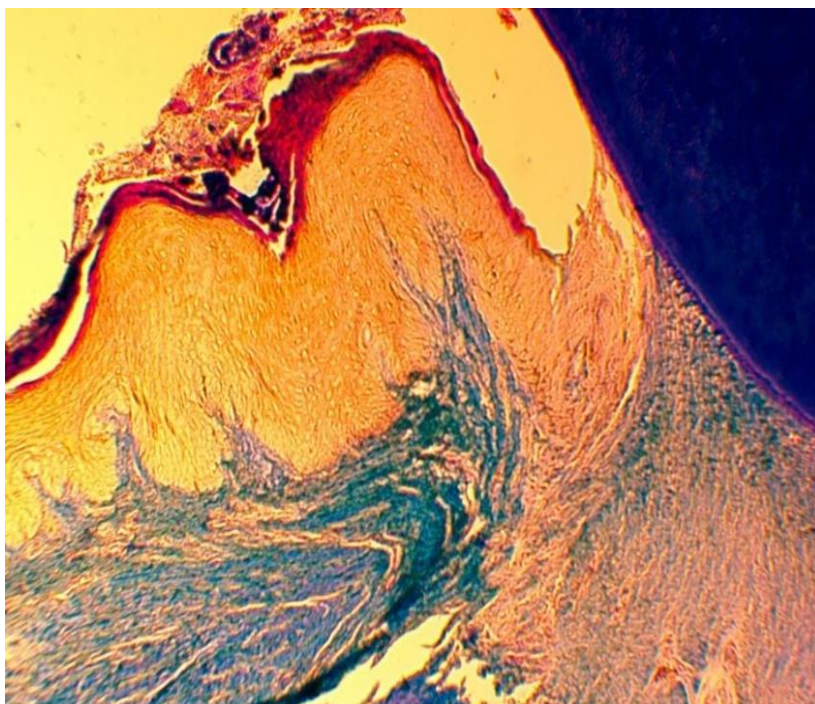


Рис. 5.75. Щільні пучки колагенових волокон власної пластинки слизової оболонки ясен. І група тварин.
Забарвлення по Маллорі, збільшення x 200.

Серед клітинних елементів можна бачити фіброцити, а також скупчення тканинних базофілів, розташованих по всій товщі власної пластинки слизової оболонки ясен (рис. 5.76).

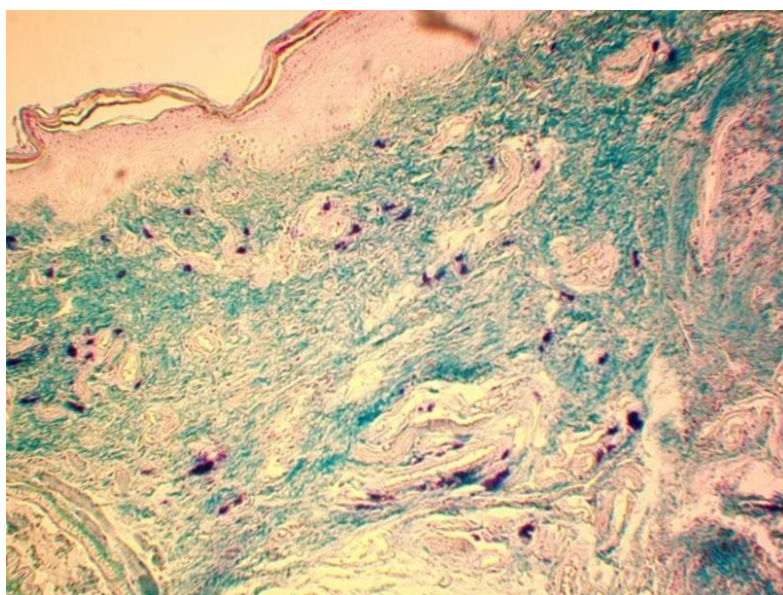


Рис. 5.76. Тканинні базофіли у власній пластинці слизової оболонки ясен. І група тварин.
Забарвлення по Маллорі, збільшення x 200.

Періодонтальна щілина розширена за рахунок резорбції альвеолярної кістки. У багатьох ділянках спостерігається зміни архітектури періодонтальної зв'язки, що супроводжуються проростанням кровоносних судин дрібного калібру (рис.5.77).

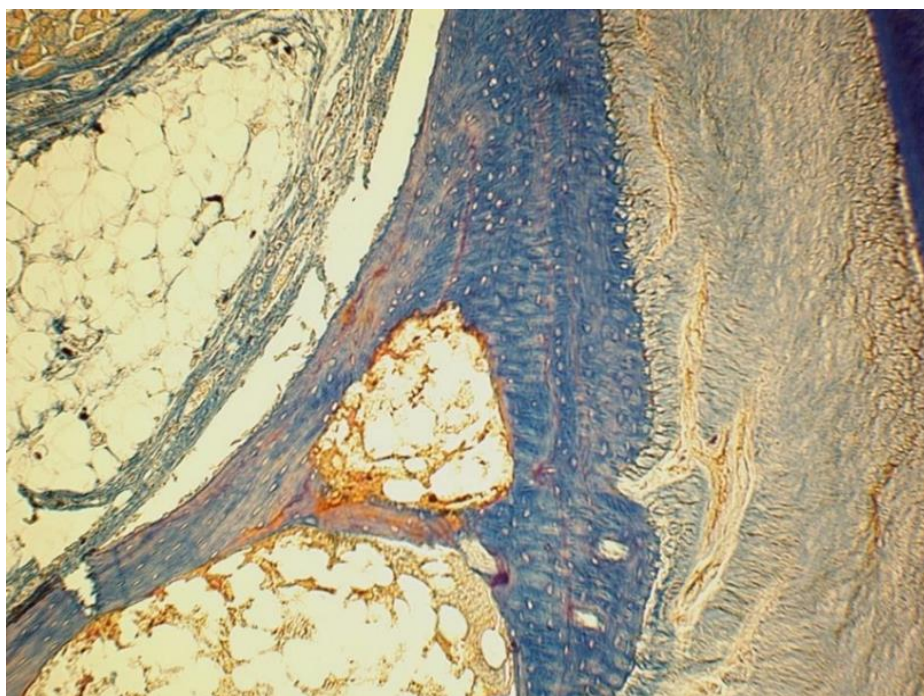


Рис. 5.77. Зміни архітектури періодонтальної зв'язки, супроводжуються проростанням кровоносних судин мілкового калібру. I група тварин. Окраска по Маллорі, збільшення x 200.

Обсяг площі, яку займають кровоносні судинами, на мікрофотографіях дорівнює $1 + 0,37 \%$.

Хоча також зустрічаються окремі ділянки значного розширення щілини з порушенням архітектоніки періодонтальної зв'язки (рис. 5.78, 5.79) і заміщується в основному пучками безладно орієнтованих колагенових волокон, серед яких в основному визначаються фібробласти і фіброцити.

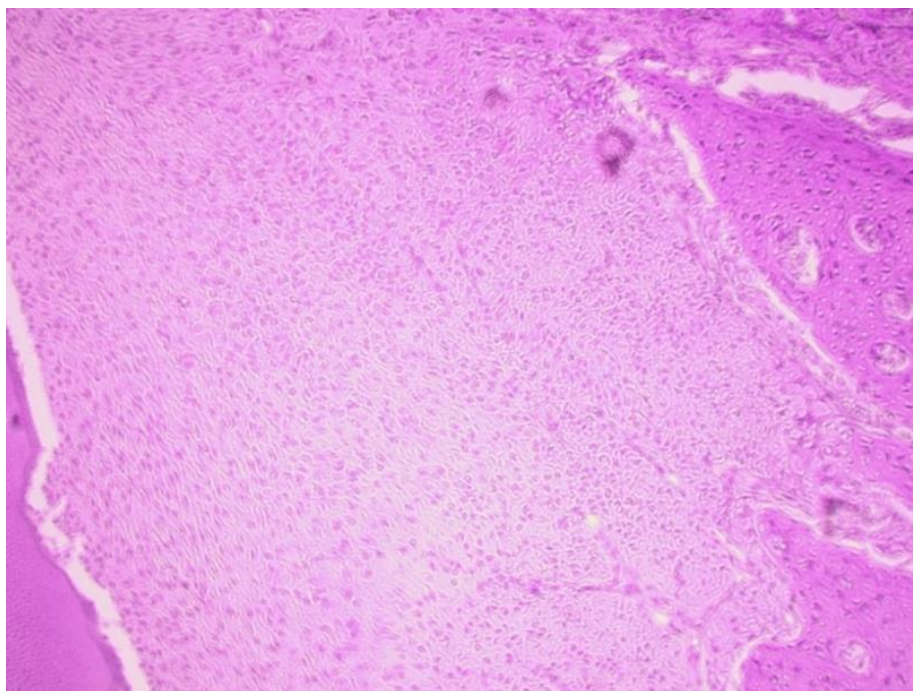


Рис. 5.78. Заміщення періодонтальної зв'язки пучками безладно орієнтованих колагенових волокон і фібробластів. І група тварин. Забарвлення гематоксиліном і еозином, збільшення x 200.

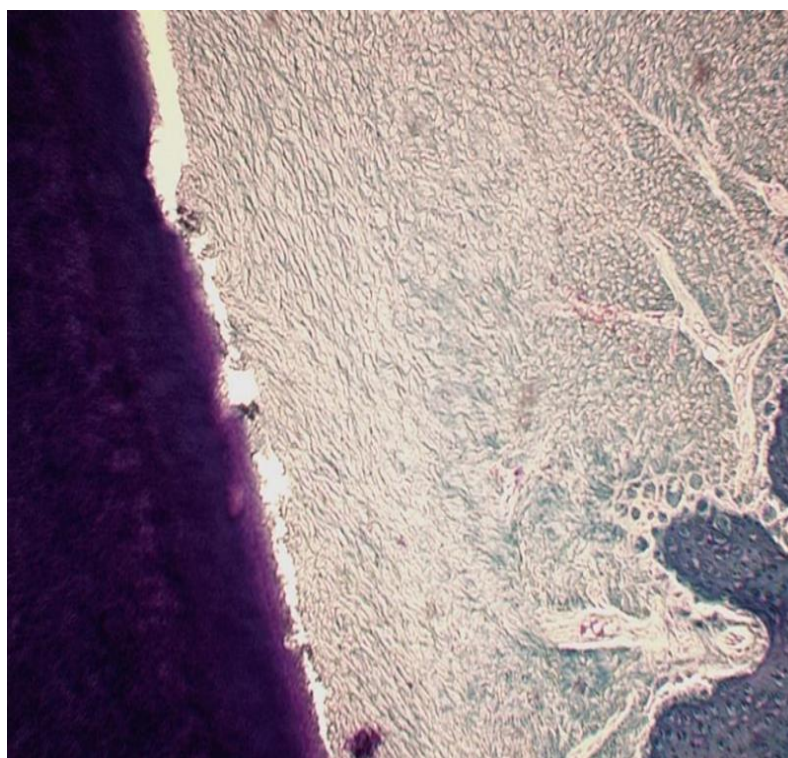


Рис. 5.79. Потовщення стінки кровоносних судин у періодонтальній зв'язці. І група тварин. Забарвлення по Маллорі, збільшення x 200.

Показник площі займаної колагеновими волокнами в області періодонтальної зв'язки, оцінювали на препаратах забарвлених по Массону, склав $35,44 \% \pm 6,42 \%$, - оптична щільність менше 0,001 у.о.

У деяких тварин відзначаються осередки резорбції клітинного цементу в області кореня зуба (рис. 5.80).

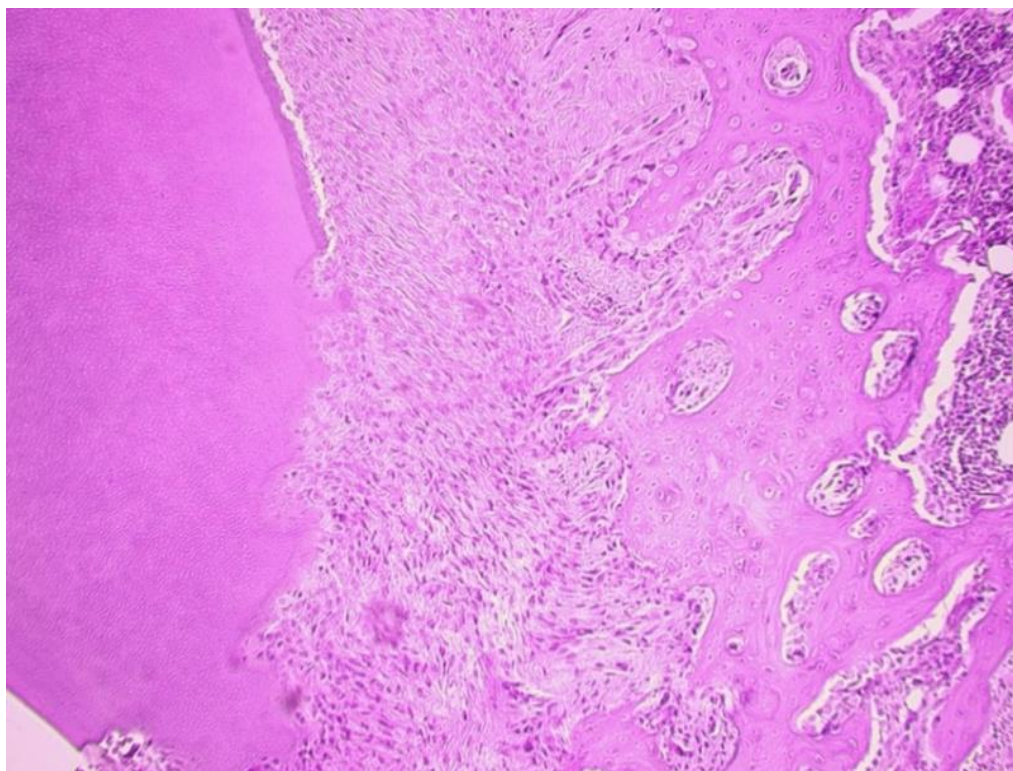


Рис. 5.80. Заміщення періодонтальної зв'язки пухкою волокнистою сполучною тканиною з численними судинами, резорбція клітинного цементу в області кореня зуба. I група тварин.

Забарвлення гематоксилином і еозином, збільшення $\times 200$

В альвеолярній кістці відзначаються ознаки резорбції. Причому резорбція відбувається як з боку поверхні альвеолярної кістки, так і з боку її кісткових каналців. Визначаються лакуни резорбції, всередині яких розташовуються гістіоцити і багатоядерні остеокласти, резорбує кістка (рис. 5.81).

Рарефікація альвеолярної кістки виражена.

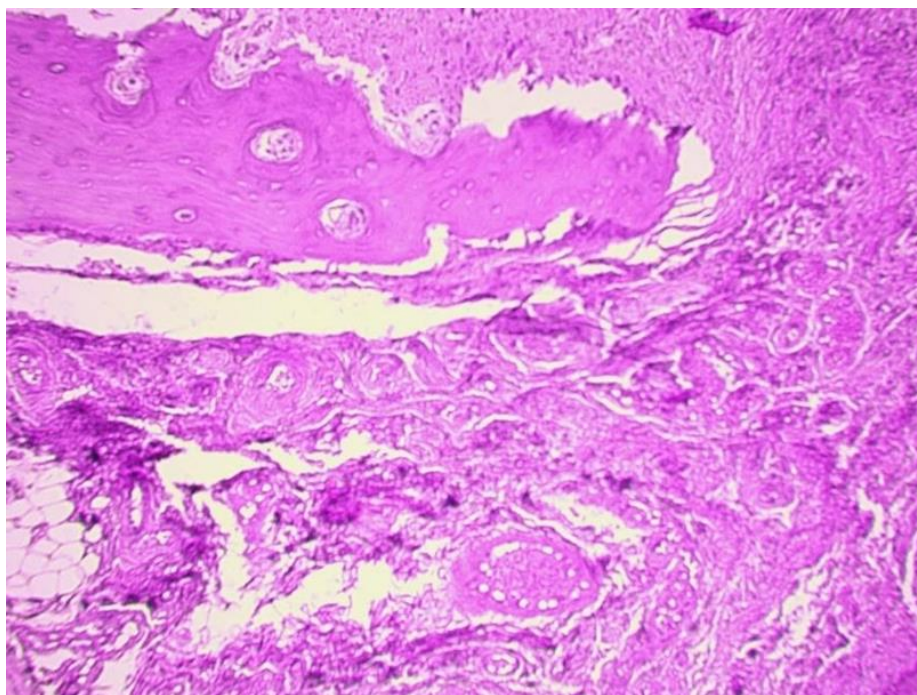


Рис. 5.81. Лакуни резорбції альвеолярної кістки. І група тварин.
Забарвлення гематоксилином і еозином, збільшення x 200

В альвеолярної кістки також визначаються ознаки мінералізації, що визначається на препаратах забарвлених по Маллорі (рис. 5.82)

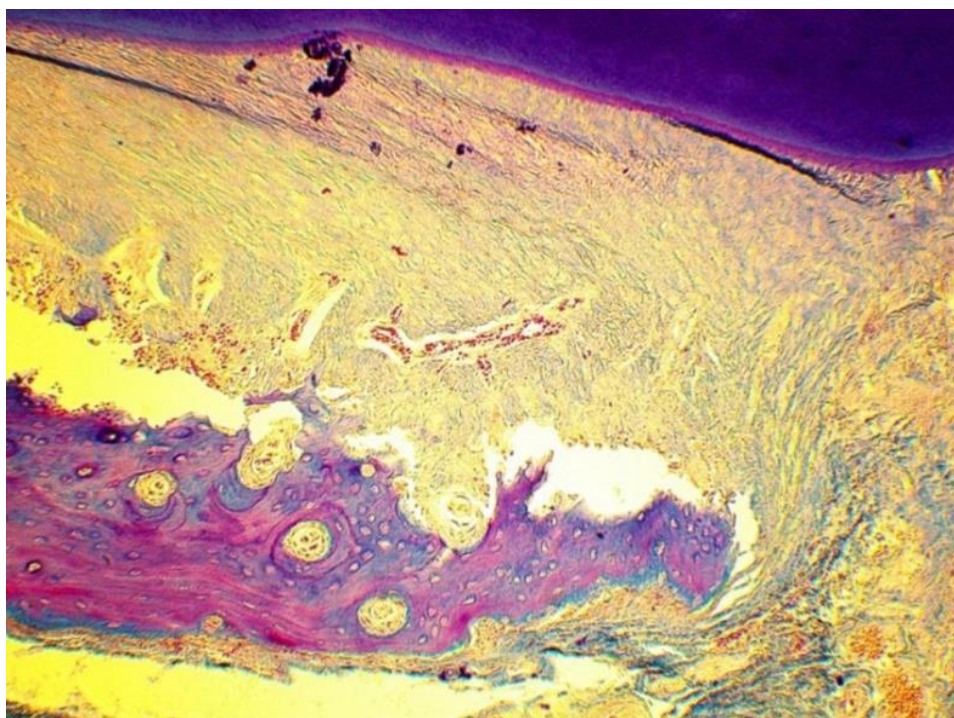


Рис. 5.82. Мінералізація альвеолярної кістки. І група тварин. Забарвлення по Маллорі, збільшення x 200

У II групі тварин можна також відзначити зміни в архітектоніці колагенових волокон власної пластинки слизової оболонки. Колагенові волокна утворюють грубі пучки, орієнтовані переважно паралельно поверхні багатошарового плоского ороговіваючого епітелію слизової оболонки ясен (рис.5.83). Відзначається незначне збільшення числа судин і клітинних елементів, в тому числі тканинних базофілів.

Обсяг площі, яку він обіймав кровоносними судинами, на мікрофотографіях дорівнює $0,54 + 0,26 \%$.

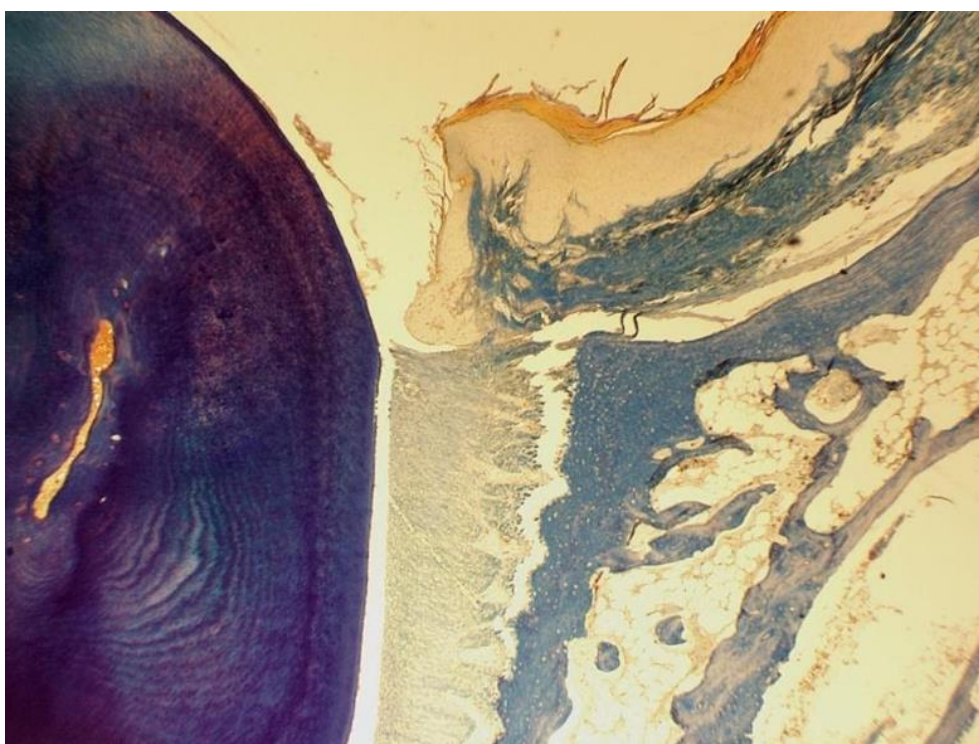


Рис. 5.83. Грубі пучки утворені колагеновими волокнами.
II група тварин. Забарвлення по Массону, збільшення $\times 40$

Періодонтальна щілина розширена за рахунок резорбції альвеолярної кістки. Гістоархітектоніка напрямку колагенових волокон слабо порушена, клітинні елементи виражені, відзначається потовщення стінки кровоносних судин (рис. 5.84).

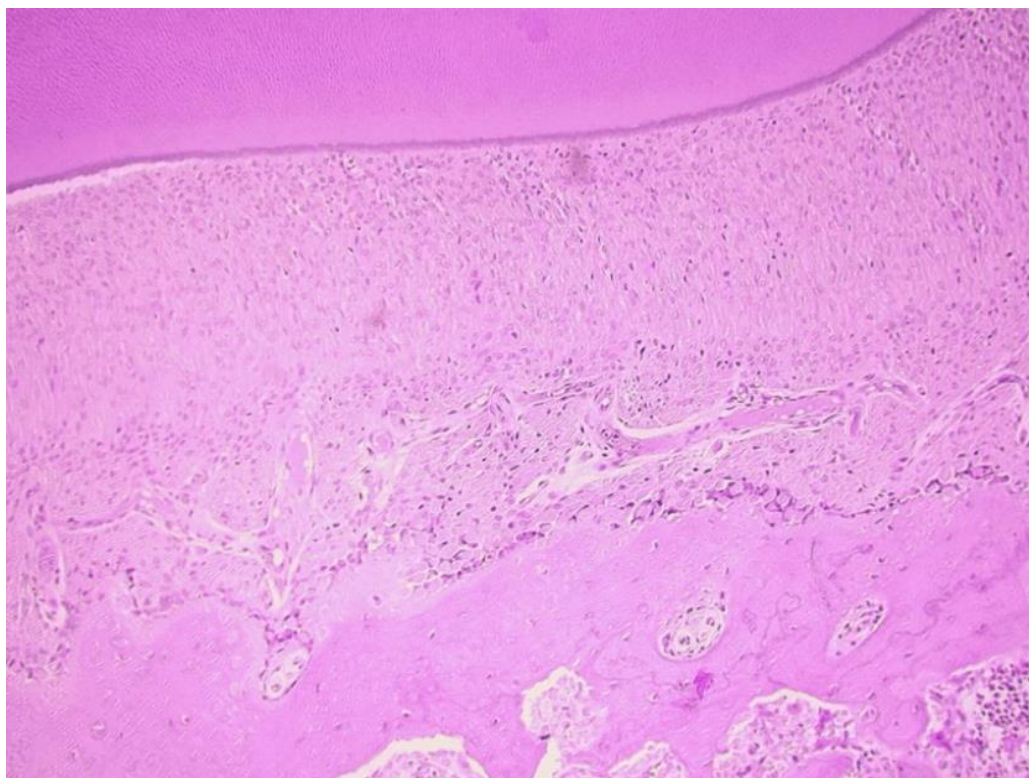


Рис. 5.84. Гістоархітектоніка напрямку колагенових волокон періодонтальної зв'язки, фіброласти, потовщення стінки кровоносних судин. II група тварин. Забарвлення гематоксилін і еозин, збільшення $\times 200$.

У препаратах, забарвлених по Массону, колагенові волокна набувають яскраво синій колір (рис. 5.85). Площа займана колагеновими волокнами склала $61,93 \% \pm 7,36 \%$ в області періодонтальної зв'язки. Слід зазначити потовщення колагенових волокон, що утворюють періодонтальную зв'язку. Оптична щільність колагенових волокон - 0,02 у.о.

Вогнищ резорбції клітинного цементу в області кореня зуба не виявлено (рис 5.86). Однак в деяких ділянках досліджуваного матеріалу визначалася часткова резорбція клітинного цементу з формуванням лакун резорбції.

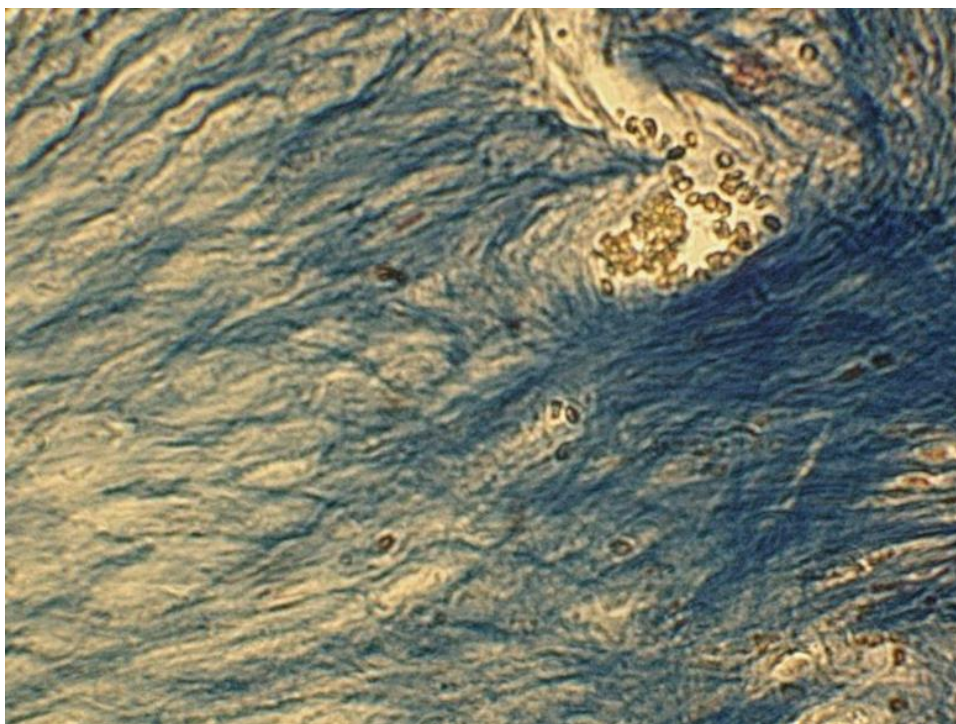


Рис. 5.85. Пучки колагенових волокон в періодонтальній зв'язці. II група тварин. Забарвлення по Массон, збільшення x 400.

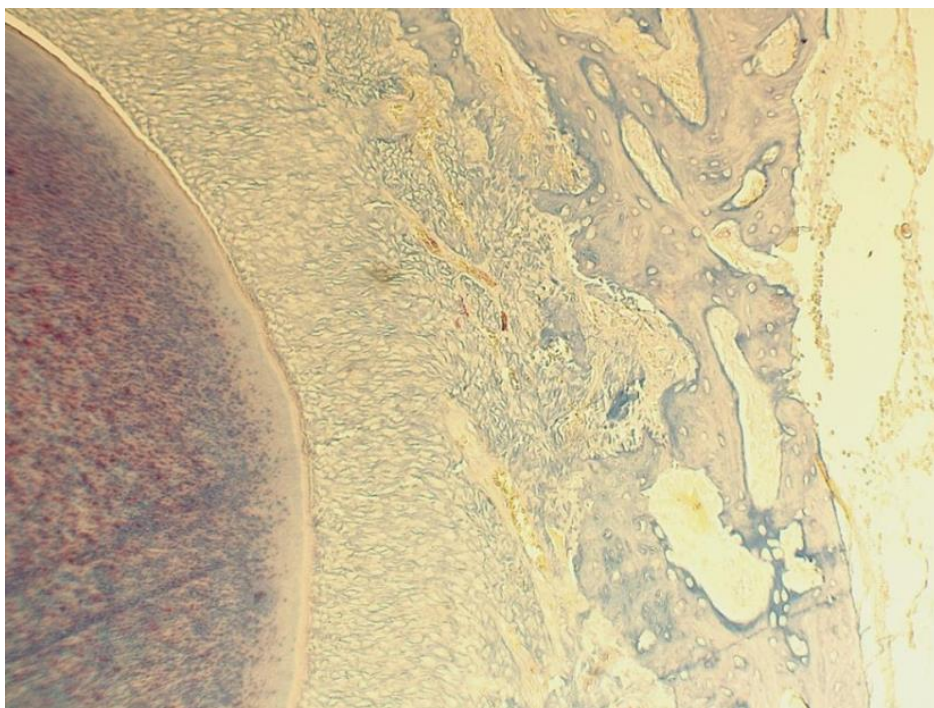


Рис. 5.86. Ділянки клітинного цементу в області кореня зуба, резорбція альвеолярної кістки, потовщені кровоносні судини періодонтальної зв'язки. II група тварин. Забарвлення по Массон, збільшення x 400.

Альвеолярна кістка з вираженими ознаками лакунарної резорбції.

У деяких тварин зустрічаються форми гладкої резорбції альвеолярної кістки. Відзначається помірна рарефікація альвеолярної кістки (рис. 5.87). Обсяг зайнятої площі кісткової тканини в вивчених препаратах склав не менше $23 \% \pm 4,25 \%$.

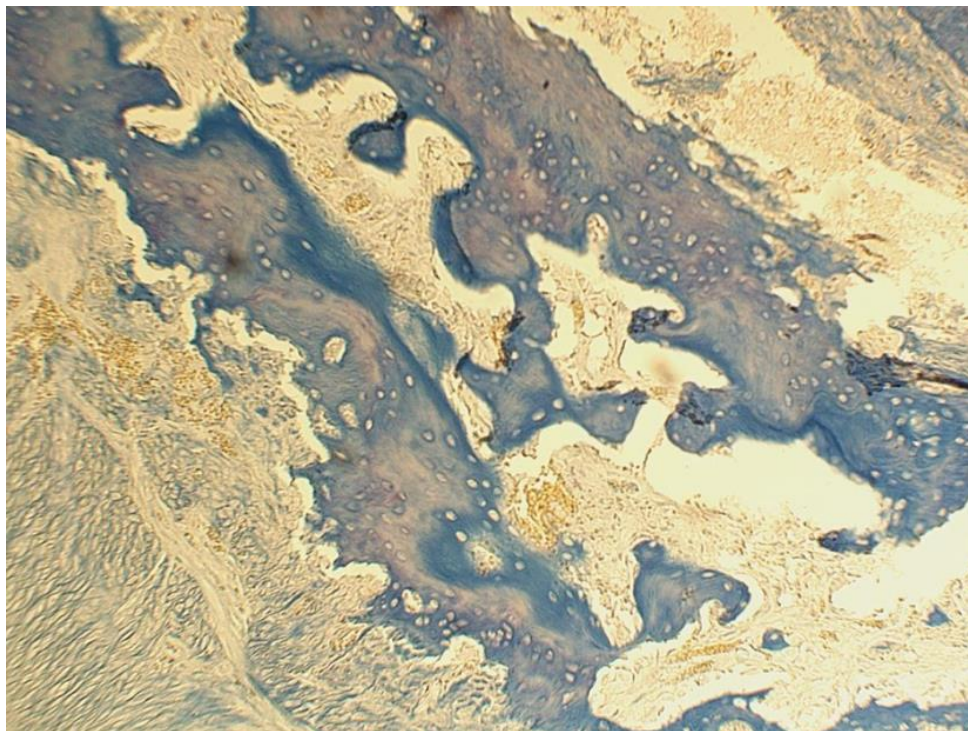


Рис. 5.87. Альвеолярна кістка з ознаками резорбції.
Рарефікація альвеолярної кістки. II група тварин.
Окраска по Массону, збільшення $\times 400$.

В гістологічній структурі кісткової тканини у II групи тварин, пофарбованих по Массону, відзначаються зони осифікації.

У третій групі тварин можна відзначити зміни в архітектоніці колагенових волокон власної пластинки слизової оболонки, збільшення числа судин і клітинних елементів, в тому числі тканинних базофілів. Колагенові волокна утворюють грубі пучки, орієнтовані як перпендикулярно, так і

паралельно поверхні багат шарового плоского ороговіваючого епітелію слизової оболонки ясен (рис.5.88).

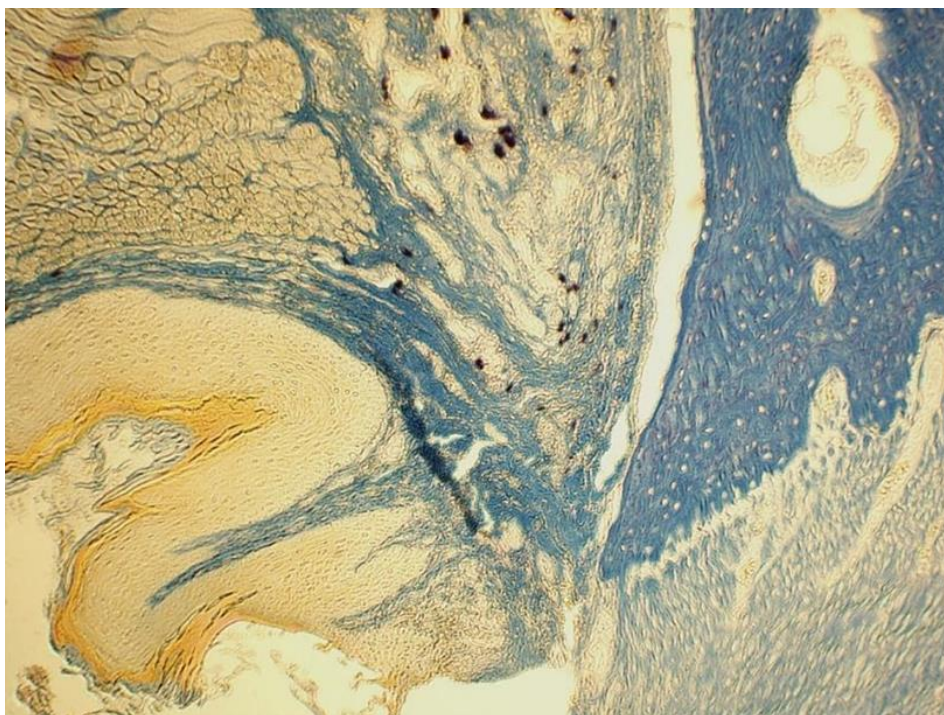


Рис. 5.88. Тканинні базофіли у власній пластинці слизової оболонки ясен. III група тварин. Забарвлення по Массону, збільшення x 200.

Періодонтальна щілина розширена за рахунок резорбції альвеолярної кістки. Слід зазначити потовщення колагенових волокон, що утворюють періодонтальну зв'язку. Гістоархітектоніка напрямку колагенових волокон порушена, відзначається їх менш щільне розташування відносно один одного. У препаратах, забарвлених по Массону, колагенові волокна набувають яскраво синій колір. Площа зайнята колагеновими волокнами склала $49,61 \% \pm 9,75 \%$ в області періодонтальної зв'язки. Оптична щільність колагенових волокон періодонтальної зв'язки - 0,05 у.о.

В періодонтальній зв'язці з боку альвеолярної кістки спостерігається потовщення стінки кровоносних судин (рис. 5.89).

Обсяг площі, яку займають кровоносні судини, на мікрофотографіях дорівнює $0,79 \pm 0,01 \%$.



Рис. 5.89. Розширення періодонтальної щілини, потовщення стінки кровоносних судини в області незначної резорбції альвеолярної кістки. III група тварин. Забарвлення по Массону, збільшення $\times 200$.

У частині експериментальних тварин періодонтальна зв'язка заміщається в основному пучками безладно орієнтованих колагенових волокон, серед яких фібробласти і скупчення адипоцитів (рис.5.90).

Зустрічаються клітинні елементи запальної реакції, у вигляді тканинних базофілів, на препаратах забарвлених по Массону (рис. 5.91).

У деяких тварин відзначаються осередки резорбції клітинного цементу в області кореня зуба (рис. 5.92).

Рарефікація альвеолярної кістки помірно виражена. При цьому альвеолярна кістка резорбується як з боку періодонтальної зв'язки, так і зі

сторони внутрішньокісткових каналців (рис. 5.92). Обсяг зайнятої площі кісткової тканини в вивчених препаратах склав не менше 24, 25 % $\pm$ 3 %.

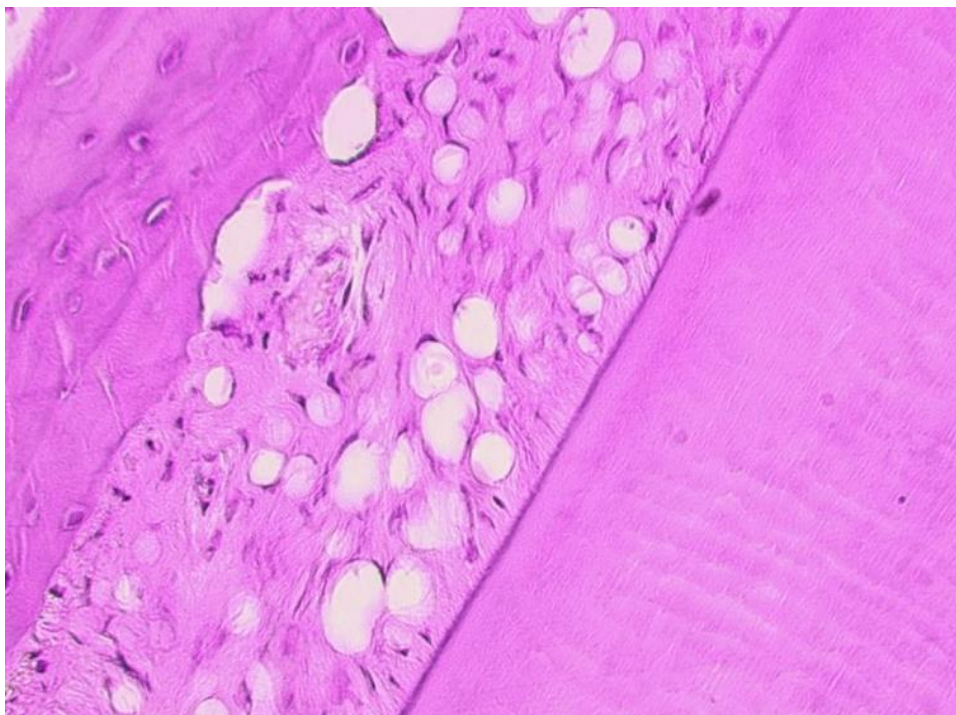


Рис. 5.90. Заміщення періодонтальної зв'язки пучками безладно орієнтованих колагенових волокон і адипоцитів.

ІІІ група тварин. Забарвлення гематоксилін і еозин, збільшення $\times 200$.

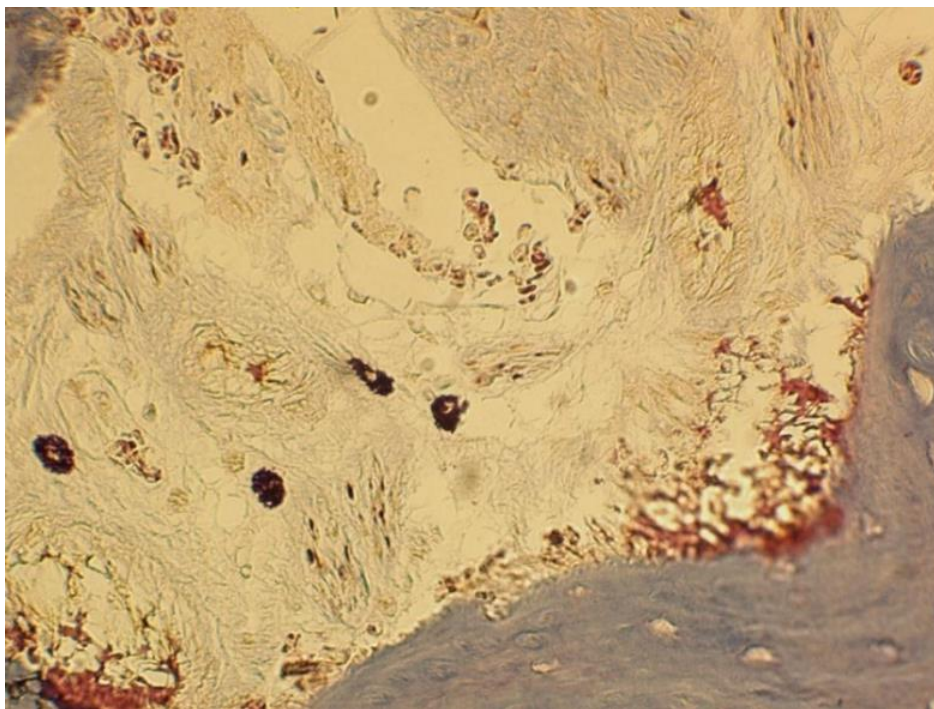


Рис. 5.91. Періодонтальна зв'язка з клітинними елементами запальної реакції - тканинними базофілами. ІІІ група тварин. Забарвлення по Массон, збільшення $\times 200$.

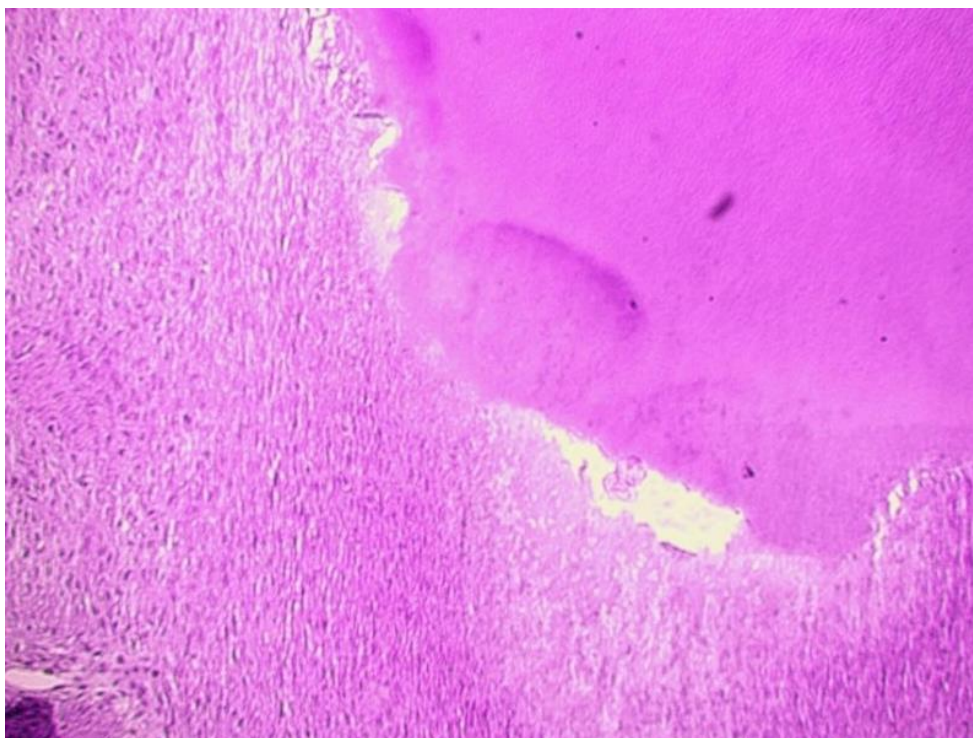


Рис. 5.92. Резорбція клітинного цементу в області кореня зуба. III група тварин. Забарвлення гематоксилін і еозин, збільшення x 200.

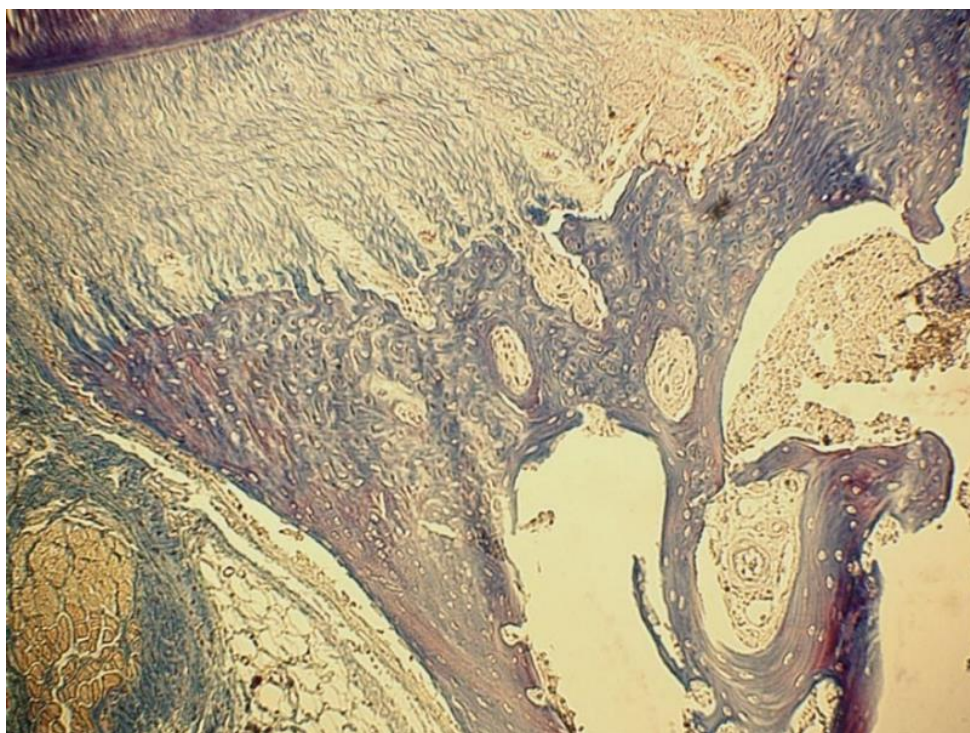


Рис. 5.93. Резорбції альвеолярної кістки. III група тварин. Забарвлення по Массон, збільшення x 200.

У гістологічній структурі кісткової тканини в III групі тварин, пофарбованих по Массону, відзначається виражена базофілія з мозаїчним розташуванням зон осифікації.

Таким чином, гістологічне і морфометричне дослідження свідчить про те, що виникає стереотипна тканинна реакція у всіх експериментальних групах тварин.

При аналізі стану тканин власної пластинки слизової оболонки ясен можна відзначити зміни в архітектоніці колагенових волокон, збільшення числа судин і клітинних елементів, в тому числі тканинних базофілів. Колагенові волокна утворюють грубі пучки, орієнтовані як перпендикулярно, так і паралельно поверхні багат шарового плоского ороговіваючому епітелію слизової оболонки ясен. У I і III групах тварин визначаються слабо виражені ознаки хронічного запального процесу, виявлено фіброзування стромы, тому що колагенові волокна формують грубі анастомозуючі пучки, забарвлюються по Маллорі в яскраво-синій колір.

Періодонтальна щілина розширена в трьох групах тварин за рахунок резорбції альвеолярної кістки.

В періодонтальній зв'язці з боку альвеолярної кістки спостерігається потовщення стінки кровоносних судин також у всіх групах тварин.

Обсяг площі, яку він обіймав кровоносними судинами, на мікрофотографіях має найбільший показник $1 + 0,37 \%$ у тварин I групи, а найменший показник - $0,54 + 0,26 \%$ - у II групи тварин. Обсяг площі, яку займають кровоносні судини, на мікрофотографіях експериментального матеріалу від III групи тварин дорівнює $0,79 + 0,01 \%$.

У частині експериментальних тварин I і III групи періодонтальна зв'язка заміщається пучками безладно орієнтованих колагенових волокон, серед яких визначаються фібробласти і адіпоцити. Зустрічаються клітинні елементи запальної реакції, у вигляді тканинних базофілів, на препаратах забарвлених по

Массону. У тварин II групи гістоархітектоніка напрямку колагенових волокон слабо порушена. Проте наголошується потовщення колагенових волокон у зазначеній групі.

Морфометричний аналіз площі займаної колагеновими волокнами і оптичної щільності їх показав відмінності в досліджуваних групах (таб. 5.3).

Таблиця 5.3

**Морфометричний аналіз площі та оптичної щільності зайнятої
колагеновими волокнами**

Група тварин	Площа колагенових волокон в періодонтальній зв'язці, в %	Оптична щільність колагенових волокон в періодонтальній зв'язці, в у.о.
1	2	3
I група	35,44%± 6,42%	0,001
II група	61,93% ± 7,36%	0,02
III група	49,61% ± 9,75%	0,05

Найбільша площа зайнята колагеновими волокнами в періодонтальній зв'язці зафіксована в II групі тварин, що становить 61,93 %. Найменший показник площі колагенових волокон в I групі тварин - 35,44 %. Оптична щільність колагенових волокон більш виражена в III групі тварин. Менш виражена - в I групі тварин. Так у тварин I групи цей показник склав менше 0,001 у.о. У II групі тварин мікроскопічно визначаються потовщення колагенових волокон які пофарбовані в насичений синій колір, що утворюють періодонтальну зв'язку, підтвердилися морфометричними показниками оптичної щільності - 0.02 у.о [320].

Відзначаються осередки резорбції клітинного цементу в області кореня зуба у частині експериментальних тварин I і III груп. У II групі тварин в деяких ділянках досліджуваного матеріалу визначалася часткова резорбція клітинного цементу з формуванням лакун резорбції. Рідше часткова резорбція клітинного цементу з формуванням лакун резорбції спостерігалася у тварин III групи.

Альвеолярна кістка з ознаками лакуарної резорбції. При цьому альвеолярна кістка резорбується як з боку періодонтальної зв'язки, так і зі сторони внутрішньокісткових каналців. У деяких тварин II групи зустрічаються форми гладкої резорбції альвеолярної кістки.

Відзначається помірна рарефікація альвеолярної кістки у всіх експериментальних групах.

Підтверджується морфометричним аналізом площа займана кістковою тканиною. Даний показник незначно відрізняється у тварин I, II, III груп і становить $24, 25 \pm 3 \%$, $23 \pm 4,25 \%$ і $29 \pm 8 \%$ відповідно.

У гістологічній структурі кісткової тканини у першій групі тварин, пофарбованих по Массону, відзначається виражена базofilія, відзначається неоднорідність, мозаїчність, вогнищева компактизація альвеолярної кістки.

В гістологічній структурі кісткової тканини у III групи тварин, відзначається виражена базofilія з центрально розташованими зонами ossифікації, а це говорить про зони регенерації кісткової тканини.

Резюме

За результатами морфологічних досліджень ін'єкційна форма тромбоцитарної аутоплазми має двухфазність впливу на пародонтальний комплекс тканин. Одразу після завершення курсу ін'єкцій тромбоцитарної аутоплазми відзначається активація метаболічних та регенеративних процесів в пародонті, запускається активний процес ремоделювання кісткової тканини – посилення остеокластичної резорбції «старої» кістки та формування «нової»

кістки. У віддалені терміни спостереження відбувається формування нового епітеліального прикріплення, відновлення структури сполучної тканини з багатою кількістю новоутворених судин, стабілізація кісткової резорбції.

Результати проведених морфологічних методів дослідження та скануючої електронної мікроскопії децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани людини після методів виготовлення показали неушкоджену структуру екстрацелюлярного матриксу та відсутність клітинних елементів, що говорить про можливість використання децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани, як колагенового матриксу, для відновлення тканин. За рахунок того, що вона має відповідну пористу структуру, багата на колаген та не має сторонніх донорських клітинних елементів. При нанесенні на поверхню ДАМ тромбоцитарної аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти покращуються адгезивні властивості мембрани та потенціюється регенеративний потенціал.

При загоєнні дефекту слизової оболонки альвеолярного відростку відмічалось, що у групах з використанням регенеративних матеріалів ДАМ, ДАМ + PRP а також ДАМ + PRP + ГК на другу добу був відсутній набряк тканин та ділянка операційного втручання була вкрита фібрином. Загоєння ран в контрольній групі проходило повільніше, характеризувалось низькою проліферативною активністю епітелію та сполучної тканини, малою кількістю новостворених судин в порівнянні з групами ДАМ, ДАМ + PRP, ДАМ + PRP + ГК. При оцінці судинної мережі відмічалось збільшення судинної мережі в групах з додаванням тромбоцитарних факторів росту та гіалуронової кислоти. При оцінці загоєння дефекту кістки альвеолярного відростку нижньої щелепи можна відзначити, що загоєння в групі з комбінуванням ДАМ + PRP відбувалось швидше на 12,2 %, а в групі з комбінування з ДАМ + PRP + ГК швидше на 43,1 % у порівнянні з загоєнням в групі з використанням тільки ДАМ.

При оцінці закриття мукогінгівального дефекту було виявлено що формування мікросудинного русла більш стимульовано комбінацією ДАМ з тромбоцитарними факторами росту та гіалуроновою кислотою. І саме при відновлення такого дефекту вдалось знайти елементи кератинізації слизової ясен за рахунок комбінування гіалуроної кислоти, тромбоцитарних факторів росту та амніотичної мембрани, як основи для біологічно-активної мембрани.

При аналізі регенеративних можливостей плазмогелю відмічалось, що відбувається потовщення колагенових волокон, зафіксовано вірогідне збільшення площі колагенових волокон 61,93 % у порівнянні з контрольною групою 35,44 %. Присутні вогнища резорбції альвеолярної кістки, але і відмічена велика кількість вогнищ оссифікації.

При аналізі регенеративних можливостей гіалуронової кислоти відзначається базофілія з мозаїчним та вогнищевим розташуванням зон оссифікації, збільшенням кількості судин, збільшенням площі зайнятої кістковою тканиною в 1,2 рази відносно групи контролю.

Судячи з морфологічних досліджень групи з плазмогелем та групи з гіалуроновою кислотою можна дійти висновку, що плазмогель з тромбоцитарної аутоплазми більше проковує регенерацію колагенових волокон та періодонтальної зв'язки, а препарат гіалуронової кислоти стимулює регенерацію альвеолярної кістки, так як саме на препаратах цієї групи була виявлена значна кількість осередків оссифікації, також в даному дослідженні гіалуронова кислота ще проковувала ріст нових судин.

Таким чином проведені нами морфологічні дослідження свідчать, про прискорення процесів загоювання м'яких тканин та регенерацію кістки альвеолярного відростка під впливом тромбоцитарних факторів росту, гіалуронової кислоти та амніотичної мембрани.

Основні положення розділу висвітлені в публікаціях:

1. Чумакова Ю.Г. Анализ клинических и биохимических показателей модифицированной модели лигатур-индуцированного пародонтита у крыс / Ю.Г. Чумакова, А.А. Вишневская, А.З. Какабадзе, Л.Г. Каралашвили, З.Ш. Какабадзе // Georgian Medical News. – 2014. - № 10 (235). – С. 63-69. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

2. Karalashvili L. Acellular human amniotic membrane as three-dimensional scaffold for the treatment of mucogingival defects / Karalashvili L., Kakabadze A., Vyshnevskia G., Kakabadze Z.// Georgian Medical News. – 2015. - № 7-8 (244-245). – С. 84-89. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

3. Вишневська Г.О. Морфологічна оцінка регенерації періодонтальної зв'язки при лікуванні генералізованого пародонтиту плазмогелем з тромбоцитарної аутоплазми / Г.О. Вишневська, С.А. Шнайдер, О.Е. Рейзвіх, Г.О. Бабеня, М.Т. Христова // Світ медицини та біології. – 2020. - №4. – С. 174-179. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

4. Вишневская А.А. Реваскуляризация дефекта в области прикрепленной десны на слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс после закрытия матриком с биологически активными материалами / А.А. Вишневская, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - №44. – С. 3-8. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

5. Вишневская А.А. Рентгенологический анализ заживления костного дефекта альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс с использованием различных видов биологически активных матриксов / А.А. Вишневская, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. - №3. – С. 10-16. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, зборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

6. Вишневська Г.О. Відновлення кісткового пародонтального дефекту біологічно активним матриксом з гіалуроновою кислотою та тромбоцитарними факторами росту в експерименті / Г.О. Вишневська, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. - №2. – С. 10-16. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, зборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

РОЗДІЛ 6

КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КОНСЕРВАТИВНИХ ТА ХІРУРГІЧНИХ РЕГЕНЕРАТИВНИХ МЕТОДИК

Хронічний генералізований пародонтит приносить людині фізичні та психологічні страждання, призводить до ранньої втрати зубів, зниження функціональних можливостей зубощелепної системи, утворення вогнищ хронічної інфекції, що призводять до розвитку соматичної патології, сенсibiliзації організму.

Неухильне прогресування запально-деструктивних процесів в тканинах пародонту, низька ефективність комплексного лікування, відсутність профілактики, короткострокові ремісії обумовлюють необхідність пошуку нових методів і засобів терапії.

Нами проведено обстеження 260 хворих, які звернулися за пародонтологічною допомогою з приводу лікування генералізованого пародонтиту хронічного перебігу, II-III ступеня важкості, були відібрані 147 пацієнтів для участі у дослідженні. Дані пацієнти були розділені на тих, які отримували базову терапію – 15 осіб, консервативну регенеративну терапію різними препаратами аутоплазми та препаратом гіалуронової кислоти – 97 осіб та 35 осіб, яким було проведено хірургічне лікування. Пацієнти які отримували консервативну регенеративну терапію препаратами аутоплазми та препаратом гіалуронової кислоти ділились на наступні групи: 14 пацієнтів, котрим призначали АМК, 15 пацієнтів – PRP, 14 пацієнтів – PPP, 12 пацієнтів – i-PRF, 15 пацієнтів – i-PRF + ГК, 13 пацієнтів – плазмгель + ГК та 14 пацієнтів – плазмгель+ ГК+ i-PRF. Хірургічне лікування проводилось 35 пацієнтам, які були розділені на 2 групи: група порівняння – 17 пацієнтів, основна – 18 пацієнтів. 3 груп дослідження виключені особи, які мали тяжкі ендокринні,

онкологічні, соматичні захворювання та хвороби крові, а також пацієнти, які відмовилися від участі в дослідженні на будь-якому з його етапів.

Середній вік обстежених хворих склав 35 – 55 років, при рівному співвідношенні чоловіків і жінок, верифікації проведеної терапії за гендерною ознакою не проводилося. Діагностику захворювань пародонта здійснювали комплексно, використовуючи дані клінічного огляду, об'єктивного визначення пародонтальних індексів, рентгенологічного дослідження, а також даних біохімічного аналізу ротової рідини та ультразвукової доплерографії.

Ефективність лікування при застосуванні регенеративних методик оцінювали за біохімічними показниками ротової рідини.

6.1 Клінічна оцінка ефективності лікування консервативними регенеративними методиками

В результаті проведеного лікування покращення індивідуальної гігієни ротової порожнини відбулося у всіх групах лікування, а отже індекс гігієни О'Лірі (табл. 6.1) у всіх обстежених зменшився на 29,95 % (з $53,17 \pm 4,12$ % до $23,22 \pm 2,10$ %). Даний показник може свідчити про ефективність якісної професійної гігієни та коректний підбір засобів для індивідуальної гігієни ротової порожнини. Особливо хочеться відмітити той факт, що у пацієнтів з генералізованим пародонтитом, після проведення роз'яснювальної бесіди з приводу якісного догляду за ротовою порожниною та можливих причин розвитку даного захворювання, в більшості випадків був високий рівень мотивації до підтримання рекомендацій лікаря по індивідуальній гігієні, та дотримання графіку відвідувань на візити підтримуючої терапії.

Індекс кровоточивості ВОР (табл.6.2) в групі до лікування становив від $19,90 \pm 1,20$ % до $63,71 \pm 6,37$ %, в групах після лікування через 2 роки від $7,37 \pm 0,62$ % до $21,92 \pm 1,82$ %, що говорить про зменшення в 2,9 разів після проведеного лікування.

Таблиця 6.1

Динаміка індексу гігієни О'Лірі, %

Групи Терміни	Група порівняння n=15	Група 1 Основна АМК (3 процедури) n=14	Група 2 Основна PRP (3 процедури) n=15	Група 3 Основна PPP (5 процедур) n=14	Група 4 Основна i-PRF (5 процедур) n=12	Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК n=15	Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК n=13	Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців n = 14
До лікування	47,53±3,86	45,41±3,92	42,63±2,86	50,90±4,20	33,79±2,60	53,17±4,12	34,93±2,62	38,27±2,68
Після лікування	15,63±2,15 P<0,001	21,68±2,10 P<0,001	12,2±1,0 P<0,001	13,43±0,90 P<0,001	17,76±1,21 P<0,001	23,22±2,10 P<0,001	11,75±1,0 P<0,001	10,33±0,92 P<0,001

Примітка: р- вірогідність відмінностей між показниками до та після лікування

Таблиця 6.2

Динаміка індексу кровоточивості (ВОР), %

Групи Терміни	Група сравнения n=15	Група 1 Основна АМК (3 процедури) n=14	Група 2 Основна PRP (3 процедури) n=15	Група 3 Основна PPP (5 процедур) n=14	Група 4 Основна i-PRF (5 процедур) n=12	Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК n=15	Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК n=13	Група 7 Основная Плазмгель + ГК 1 введення + i- PRF (5 процедур) кожні 6 місяців n = 14
До лікування	49,87±5,12	63,71±6,37	37,22±2,16	41,49±3,20	19,90±1,20	25,43±1,42	36,13±2,47	38,65±2,70
Після лікування	21,83±2,15 P<0,001	11,30±1,0 P<0,001	7,42±0,48 P<0,001	21,92±1,82 P<0,001	7,37±0,62 P<0,001	9,17±0,82 P<0,001	9,68±0,60 P<0,001	9,19±0,82 P<0,001

Примітка: р- вірогідність відмінностей між показниками до та після лікування

Показник глибини пародонтальних кишень після проведеного лікування зменшився на 29 % ($4,02 \pm 0,20$ мм - $8,68 \pm 0,32$ мм до $2,89 \pm 0,18$ мм - $6,91 \pm 0,20$ мм (табл.6.3).

Таблиця 6.3

Динаміка показнику глибини пародонтальних кишень, мм

Терміни Групи	Глибина пародонтальних кишень, мм	
	До лікування n = 112	Через 2 роки після лікування
Група порівняння n = 15 (230 зубів)	$4,87 \pm 0,18$	$5,19 \pm 0,22$ $P_2 > 0,25$
Група 1 Основна АМК (3 процедури), n = 14 (139 зубів)	$5,09 \pm 0,18$ $P > 0,25$	$3,34 \pm 0,15$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Група 2 Основна PRP (3 процедури), n = 12 (128 зубів)	$4,02 \pm 0,20$ $P > 0,3$	$2,89 \pm 0,18$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Група 3 Основна PPP (5 процедур), n = 13 (151 зуб)	$6,21 \pm 0,28$ $P < 0,001$	$5,56 \pm 0,21$ $P > 0,25$ $P_2 > 0,1$
Група 4 Основна i-PRF (5 процедур), n = 12 (227 зубів)	$5,44 \pm 0,19$ $P < 0,02$	$4,79 \pm 0,26$ $P > 0,25$ $P_2 < 0,05$
Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК, n = 15 (170 зубів)	$8,43 \pm 0,34$ $P < 0,001$	$6,91 \pm 0,20$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,01$
Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК, n = 12 (140 зубів)	$4,76 \pm 0,15$ $P > 0,4$	$4,05 \pm 0,14$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,02$
Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців, n = 15 (175 зубів)	$8,68 \pm 0,32$ $P < 0,001$	$4,11 \pm 0,12$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,001$

Примітка: p- вірогідність відмінностей з групою порівняння

p₂ - вірогідність відмінностей з групою до лікування

Ступінь рухливості зубів зменшився на 36,52 %. (від $8,17 \pm 0,62$ - $22,84 \pm 1,12$ до $5,67 \pm 0,32$ до $14,5 \pm 1,0$ (табл.6.4).

Таблиця 6.4

Динаміка зміни показника кількості рухомих зубів

Терміни Групи	Кількість рухливих зубів	
	До лікування n = 112	Через 2 роки після лікування
Група порівняння n = 15 (230 зубів)	$10,34 \pm 0,75$	$9,84 \pm 0,56$ $P_2 > 0,6$
Група 1 Основна АМК (3 процедури), n = 14 (139 зубів)	$22,84 \pm 1,12$ $P < 0,001$	$14,5 \pm 1,0$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Група 2 Основна PRP (3 процедури), n = 12 (128 зубів)	$8,17 \pm 0,62$ $P < 0,02$	$5,67 \pm 0,32$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,002$
Група 3 Основна PPP (5 процедур), n = 13 (151 зуб)	$15,84 \pm 0,92$ $P < 0,001$	$12,17 \pm 0,76$ $P < 0,02$ $P_2 < 0,002$
Група 4 Основна i-PRF (5 процедур), n = 12 (227 зубів)	$11,0 \pm 0,80$ $P > 0,5$	$8,34 \pm 0,63$ $P > 0,1$ $P_2 < 0,02$
Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК, n = 15 (170 зубів)	$17,84 \pm 1,0$ $P < 0,001$	$12,34 \pm 0,93$ $P < 0,02$ $P_2 < 0,001$
Група 6 Основна Плазмогель (3 процедури) + ГК, n = 12 (140 зубів)	$14,5 \pm 0,90$ $P < 0,002$	$7,84 \pm 0,53$ $P < 0,02$ $P_2 < 0,001$
Група 7 Основна Плазмогель + ГК 1 введення + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців, n = 15 (175 зубів)	$19,67 \pm 1,32$ $P < 0,001$	$10,17 \pm 0,90$ $P > 0,7$ $P_2 < 0,001$

Примітка: p - вірогідність відмінностей з групою порівняння

p₂ - вірогідність відмінностей з групою до лікування

Показник глибини рецесії (оголення коренів зубів) після лікування через 2 роки зменшився в 1,15 разів, від $2,47 \pm 0,10$ мм до $2,14 \pm 0,10$ мм (табл.6.5).

Таблиця 6.5

Динаміка показнику глибини рецесії, мм

Терміни Групи	Глибина рецесії, мм	
	До лікування n = 112	Через 2 роки після лікування
Група порівняння n = 15 (230 зубів)	$0,37 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,01$ $P_2 > 0,8$
Група 1 Основна АМК (3 процедури), n = 14 (139 зубів)	$1,82 \pm 0,10$ $P < 0,001$	$1,29 \pm 0,09$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,002$
Група 2 Основна PRP (3 процедури), n = 12 (128 зубів)	$2,47 \pm 0,10$ $P < 0,001$	$0,19 \pm 0,01$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,002$
Група 3 Основна PPP (5 процедур), n = 13 (151 зуб)	$1,50 \pm 0,08$ $P < 0,001$	$1,47 \pm 0,09$ $P < 0,001$ $P_2 > 0,8$
Група 4 Основна i-PRF (5 процедур), n = 12 (227 зубів)	$0,77 \pm 0,02$ $P < 0,001$	$0,78 \pm 0,02$ $P < 0,001$ $P_2 > 0,8$
Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК, n = 15 (170 зубів)	$2,04 \pm 0,10$ $P < 0,001$	$1,97 \pm 0,11$ $P < 0,001$ $P_2 > 0,7$
Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК, n = 12 (140 зубів)	$1,11 \pm 0,08$ $P < 0,001$	$1,01 \pm 0,05$ $P < 0,001$ $P_2 > 0,7$
Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців, n = 15 (175 зубів)	$0,99 \pm 0,01$ $P < 0,001$	$2,14 \pm 0,10$ $P < 0,001$ $P_2 < 0,001$

Примітка: p - вірогідність відмінностей з групою порівняння

p₂ - вірогідність відмінностей з групою до лікування

Індекс втрати ясеневого прикріплення (CAL) після проведеного лікування через 2 роки зменшився в 1,6 раз (табл.6.6).

Таблиця 6.6

Оцінка динаміки втрати епітеліального прикріплення, мм

Терміни Групи	Втрата ясеневого прикріплення (CAL), мм	
	До лікування n = 112	Через 2 роки після лікування
Група порівняння n = 15 (230 зубів)	5,19 ± 0,22	5,54 ± 0,18 P ₂ > 0,2
Група 1 Основна АМК (3 процедури), n = 14 (139 зубів)	6,20 ± 0,21 P < 0,02	4,63 ± 0,15 P < 0,002 P ₂ < 0,001
Група 2 Основна PRP (3 процедури), n = 12 (128 зубів)	4,18 ± 0,21 P < 0,02	3,07 ± 0,16 P < 0,002 P ₂ < 0,001
Група 3 Основна PRP (5 процедур), n = 13 (151 зуб)	7,70 ± 0,31 P < 0,02	7,03 ± 0,20 P < 0,001 P ₂ > 0,1
Група 4 Основна PRF (5 процедур), n = 12 (227 зубів)	6,21 ± 0,16 P < 0,002	5,57 ± 0,20 P > 0,8 P ₂ < 0,02
Група 5 Основна PRF (5 процедур) + 1 введення ГК, n = 15 (170 зубів)	9,55 ± 0,36 P < 0,001	8,07 ± 0,28 P < 0,001 P ₂ < 0,02
Група 6 Основна Плазмogель (3 процедури) + ГК, n = 12 (140 зубів)	5,87 ± 0,16 P < 0,02	5,06 ± 0,12 P < 0,05 P ₂ < 0,01
Група 7 Основна Плазмogель + ГК 1 введення + PRF (5 процедур) кожні 6 місяців, n = 15 (175 зубів)	9,67 ± 0,41 P < 0,001	7,25 ± 0,30 P < 0,002 P ₂ < 0,001

Примітка: p - вірогідність відмінностей з групою порівняння

p₂ - вірогідність відмінностей з групою до лікування

Стан кісткової тканини в ділянці фуркації (ураження фуркації) в групах після проведеного лікування через 2 роки зменшилось до 2,8 разів (табл.6.7).

Таблиця 6.7

Оцінка динаміки ураження фуркацій

Терміни Групи	Ступінь ураження фуркації	
	До лікування n = 112	Через 2 роки після лікування
Група порівняння n = 15 (230 зубів)	5,5 ± 0,21	4,88 ± 0,16 P ₂ < 0,05
Група 1 Основна АМК (3 процедури), n = 14 (139 зубів)	15,0 ± 0,92 P < 0,001	10,5 ± 0,52 P < 0,001 P ₂ < 0,001
Група 2 Основна PRP (3 процедури), n = 12 (128 зубів)	2,34 ± 0,15 P < 0,001	0,84 ± 0,05 P < 0,001 P ₂ < 0,001
Група 3 Основна PRP (5 процедур), n = 13 (151 зуб)	11,5 ± 0,63 P < 0,001	8,34 ± 0,52 P < 0,001 P ₂ < 0,002
Група 4 Основна PRF (5 процедур), n = 12 (227 зубів)	5,67 ± 0,32 P > 0,6	4,34 ± 0,20 P < 0,05 P ₂ < 0,002
Група 5 Основна PRF (5 процедур) + 1 введення ГК, n = 15 (170 зубів)	12,84 ± 0,72 P < 0,001	12,0 ± 0,68 P < 0,001 P ₂ > 0,4
Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК, n = 12 (140 зубів)	6,5 ± 0,26 P > 0,4	4,17 ± 0,20 P < 0,01 P ₂ < 0,001
Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення + PRF (5 процедур) каждые 6 месяцев, n = 15 (175 зубів)	14,67 ± 0,92 P < 0,001	5,67 ± 0,26 P < 0,02 P ₂ < 0,01

Примітка: p - вірогідність відмінностей з групою порівняння

p₂ - вірогідність відмінностей з групою до лікування

6.2 Клінічна оцінка ефективності лікування хірургічними регенеративними методиками

Перед проведенням регенеративних хірургічних методик обов'язково виконувалося клінічне обстеження пацієнтів, що включає збір скарг, анамнезу захворювання і життя, в тому числі визначення наявності супутніх захворювань, алергологічного статусу, далі проводилися зовнішній огляд і огляд порожнини рота, зондування - для визначення глибини пародонтальних кишень, яка в середньому становила до лікування в групі порівняння $6,28 \pm 0,01$ мм, в основній групі – $7,61 \pm 0,27$ мм (табл. 6.8).

Таблиця 6.8

Оцінка динаміки індексу гігієни О'Лірі, %

Показники Терміни	Індекс гігієни, %	
	Група порівняння, n = 17	Основна група, n = 18
До лікування	$62,20 \pm 4,80$	$36,54 \pm 2,80$
Після лікування	$31,30 \pm 2,53$ P < 0,001	$5,0 \pm 0,32$ P < 0,001

Примітка: p- вірогідність відмінностей між показниками до та після лікування

Також здійснювали індексну оцінку стану тканин пародонта: індекс гігієни О'Лірі, індекс кровоточивості (BOR), глибину рецесії, втрату епітеліального прикріплення, кількість зубів з ураженнями фуркацій, рухомість зубів.

В ході індексної оцінки стану тканин пародонта ми отримали наступні результати: Індекс гігієни до лікування в групі порівняння складав $62,20 \pm 4,80$ мм, в основній групі $36,54 \pm 2,80$ мм, після лікування в групі порівняння $31,30 \pm 2,53$ мм, що в 2 рази менш, ніж до лікування, в основній групі $5,0 \pm 0,32$ мм, що в 7,3 рази менше ніж до лікування в цій групі (див. табл. 6.8).

Індекс кровоточивості у групі порівняння до лікування становив $33,47 \pm 2,52$ %. В основній групі до лікування – $23,95 \pm 1,72$ %. Після проведеного лікування в групі порівняння індекс дорівнював $18,65 \pm 1,20$ %, а в основній групі $5,27 \pm 0,40$ % (табл. 6.9). Показник знизився в групі порівняння в 1,8 разів, а в основній групі в 4,5 разів.

Таблиця 6. 9

Оцінка динаміки індексу кровоточивості (ВОР), %

Показники	Індекс кровоточивості (ВОР), %	
	Група порівняння, n = 17	Основна група, n = 18
Терміни		
До лікування	$33,47 \pm 2,52$	$23,95 \pm 1,72$
Після лікування	$18,65 \pm 1,20$ $P < 0,001$	$5,27 \pm 0,40$ $P < 0,001$

Примітка: р- вірогідність відмінностей між показниками до та після лікування

Глибина пародонтальних кишень в групі порівняння до лікування $6,28 \pm 0,01$ мм, через 2 роки після лікування $5,70 \pm 0,09$ мм, зменшення

глибини в 1,10 разів. В основній групі показник до лікування – $7,61 \pm 0,27$ мм, після лікування $5,82 \pm 0,13$ мм, зменшення глибини в 1,30 разів.

Динаміка показника глибини рецесії представлена в таблиці 6.10.

Таблиця 6.10

**Оцінка динаміки клінічних показників після
хірургічного лікування**

Групи Показники	Група порівняння		Основна група	
	До лікування n = 17	Через 2 роки після лікування	До лікування n = 18	Через 2 роки після лікування
Глибина пародонтальних кишень	$6,28 \pm 0,01$	$5,70 \pm 0,09$ $P < 0,001$	$7,61 \pm 0,27$	$5,82 \pm 0,13$ $P < 0,001$
Глибина рецесії	$0,30 \pm 0,04$	$0,42 \pm 0,03$ $p < 0,05$	$0,28 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,02$ $P > 0,6$
Втрата епітеліального прикріплення	$6,53 \pm 0,12$	$6,08 \pm 0,13$ $p < 0,05$	$8,01 \pm 0,33$	$6,50 \pm 0,18$ $P < 0,001$
Ураження фуркації	$5,0 \pm 0,32$	$3,3 \pm 0,21$ $P < 0,001$	$7,4 \pm 0,61$	$4,6 \pm 0,30$ $P < 0,001$
Рухомість зубів	$9,4 \pm 0,09$	$5,1 \pm 0,45$ $P < 0,001$	$17,2 \pm 1,31$	$7,40 \pm 0,42$ $P < 0,001$

Примітка: p- вірогідність відмінностей між показниками до та після лікування

Показник до лікування в групі порівняння – $0,30 \pm 0,04$ мм, після лікування $0,42 \pm 0,03$ мм, збільшення глибини рецесії в 1,4 рази. В основній групі показник до лікування – $0,28 \pm 0,03$ мм, після лікування $0,26 \pm 0,02$ мм, зменшення глибини рецесії в 1,07 рази. Що дозволяє дійти висновку, що результат зменшення поглиблення рецесії відбувається в основній групі, за рахунок використання під час хірургічного втручання препарату гіалуронової кислоти, який є

своєрідним матриксом для утворення кісткової тканини і утримання висоти ясеневого контуру.

Оцінка втрати епітеліального прикріплення (див. табл.6.10). Динаміка показника до лікування в групі порівняння становить $6,53 \pm 0,12$ мм, після лікування – $6,08 \pm 0,13$ мм, зменшення в 1,07 разів. В основній групі до лікування $8,01 \pm 0,33$ мм, після лікування – $6,50 \pm 0,18$ мм, зменшення відбулося в 1,23 рази.

Динаміка змін ураження фуркації (табл. 6.10). В групі порівняння до лікування – $5,0 \pm 0,32$ зубів, після лікування – $3,3 \pm 0,21$ зубів, зменшення в 1,5 разів. В основній групі до лікування показник – $7,4 \pm 0,61$ зубів, через 2 роки після лікування – $4,6 \pm 0,30$ зубів, зменшення в 1,6 разів.

Рухомість зубів (табл.6.10), у групі порівняння до лікування становила $9,4 \pm 0,09$ зубів, після лікування – $5,1 \pm 0,45$ зубів, зменшилась в 1,8 разів. В основній групі до лікування – $17,2 \pm 1,31$ зубів, після лікування – $7,40 \pm 0,42$ зубів, зменшилась в 2,32 рази

6.3 Динаміка показників мікроциркуляції в тканинах пародонта після лікування комбінованою методикою препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти за даними ультразвукової доплерографії

Результати ультразвукової доплерографії після консервативного регенеративного лікування

На рисунку 6.1 представлена динаміка гемодинамічних змін максимальної систолічної швидкості кровотоку через 1 і 2 роки після проведеного лікування.

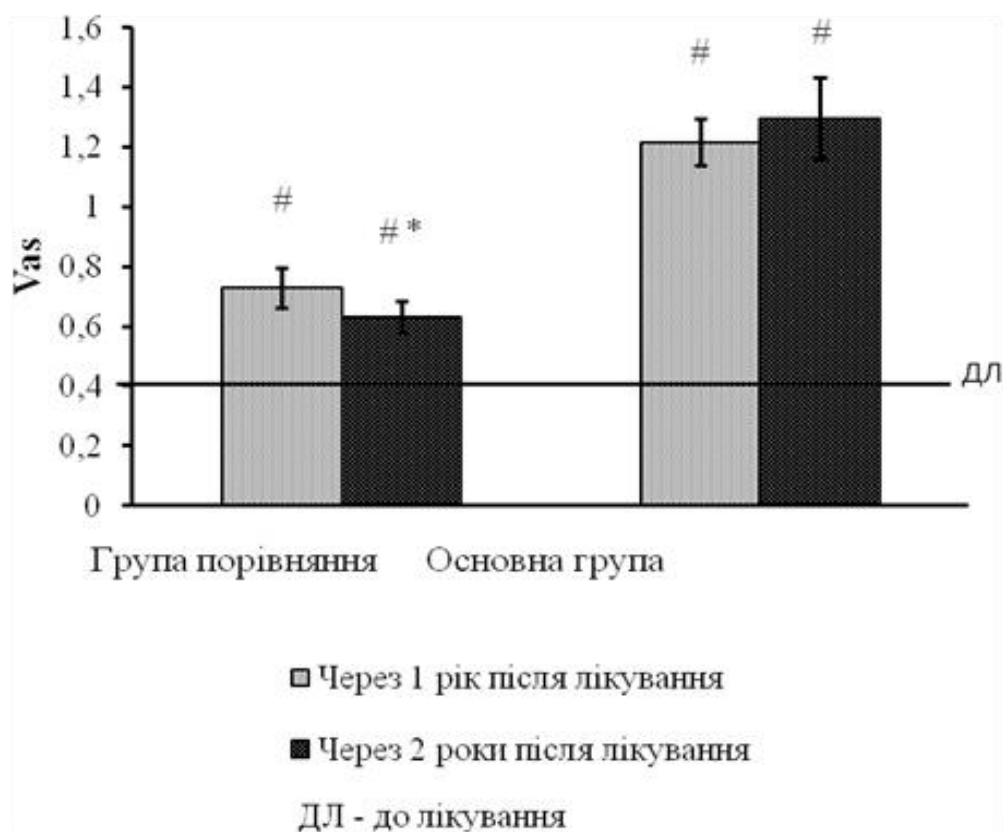


Рис. 6.1. Максимальна систолічна швидкість кровотоку V_{as} , см/сек.

Примітка: Основна група – плазмогель + ГК + i-PRF, # – вірогідна розбіжність від показника до лікування, * – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування, вертикальні rischi – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

На представленій діаграмі чітко видно, що покращення кровотоку відбулося після проведеного лікування, як в основній групі (через 1 рік – $1,217 \pm 0,035$ см/сек., через 2 роки – $1,297 \pm 0,061$ см/сек.), так і в групі порівняння (через 1 рік – $0,729 \pm 0,031$ см/сек., через 2 роки – $0,632 \pm 0,025$ см/сек.). На віддаленому терміні, через 2 роки, можна відмітити, що показник в групі порівняння поступово починає знижуватись, а в основній групі лишається так само на високому рівні.

На рисунку 6.2 представлені гемодинамічні зміни показника середньої лінійної швидкості кровотоку.

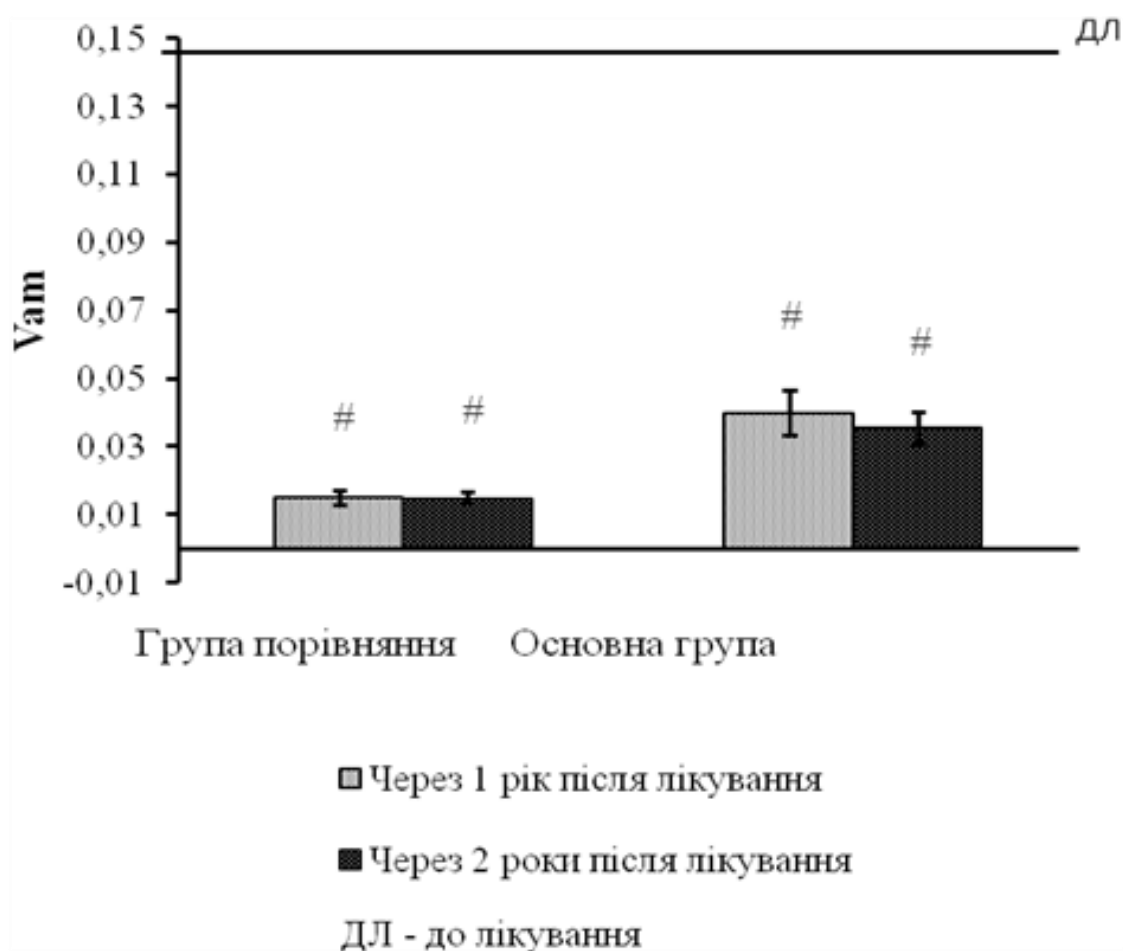


Рис. 6.2. Середня лінійна швидкість кровотоку V_{am} , см/сек.

Примітка: Основна група – плазмгель + ГК + i-PRF, # – вірогідна розбіжність від показника до лікування, * – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування, вертикальні rischi – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

В групі порівняння після лікування показник збільшився через 1 рік до $0,0151 \pm 0,001$ см/сек., через 2 роки лишався без достовірних змін $0,0149 \pm 0,008$ см/сек. Показники основної групи через 1 рік склали $0,0398 \pm 0,0030$

см/сек., через 2 роки – $0,0354 \pm 0,0021$ см/сек. З отриманих результатів видно, що вірогідної різниці між показником на 1 і 2 роках спостереження не відбувається. Але є вірогідна різниця між показниками основної групи і групи порівняння, приблизно в 2,5 рази збільшення показника в основній групі.

На рисунку 6.3 представлена динаміка об'ємної систолічної швидкості кровотоку. На діаграмі видно покращення кровотоку після проведеного лікування в обох групах. Але в групі порівняння показник через 1 рік після лікування складає $0,0226 \pm 0,0003$ мл/сек., а через 2 роки – $0,0169 \pm 0,0008$ мл/сек. В основній групі, через 1 рік – $0,042 \pm 0,001$ мл/сек., через 2 роки – $0,037 \pm 0,001$ мл/сек.

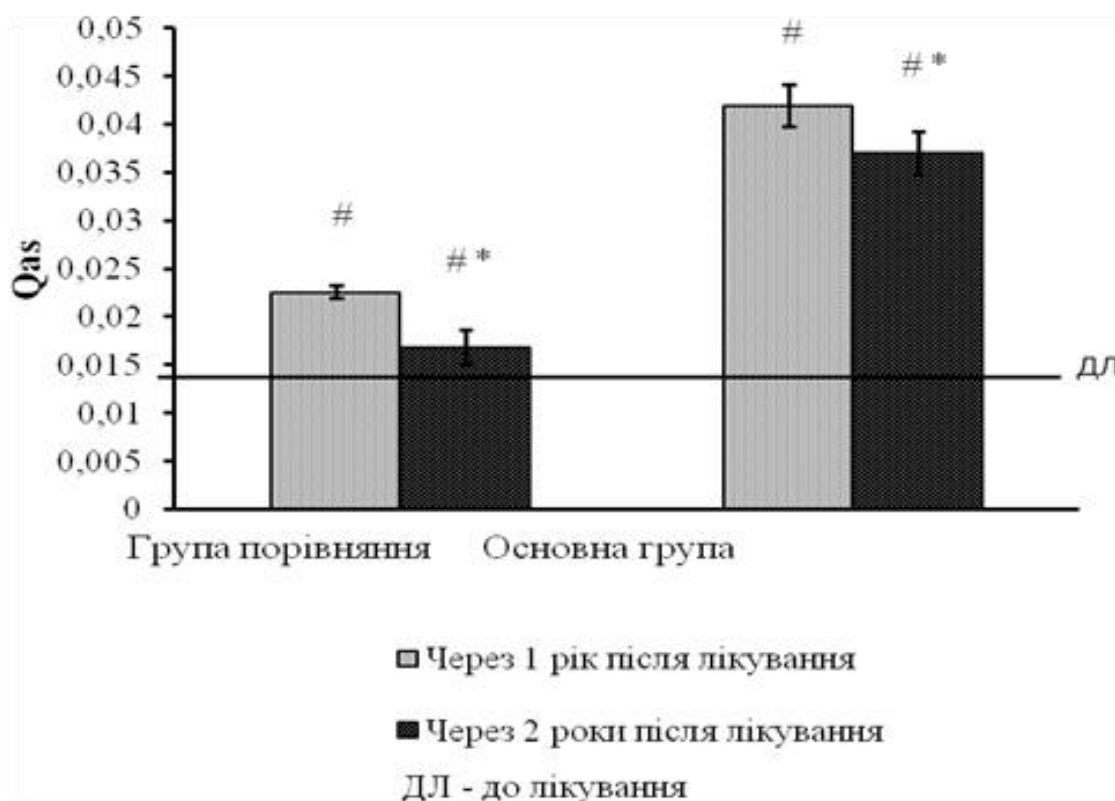


Рис. 6.3. Об'ємна систолічна швидкість кровотоку Q_{as} , мл/сек.

Примітка: Основна група – плазмгель + ГК + i-PRF, # – вірогідна розбіжність від показника до лікування, * – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування, вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

Динаміка середньої об'ємної швидкості кровотоку відображена на рисунку 6.4.

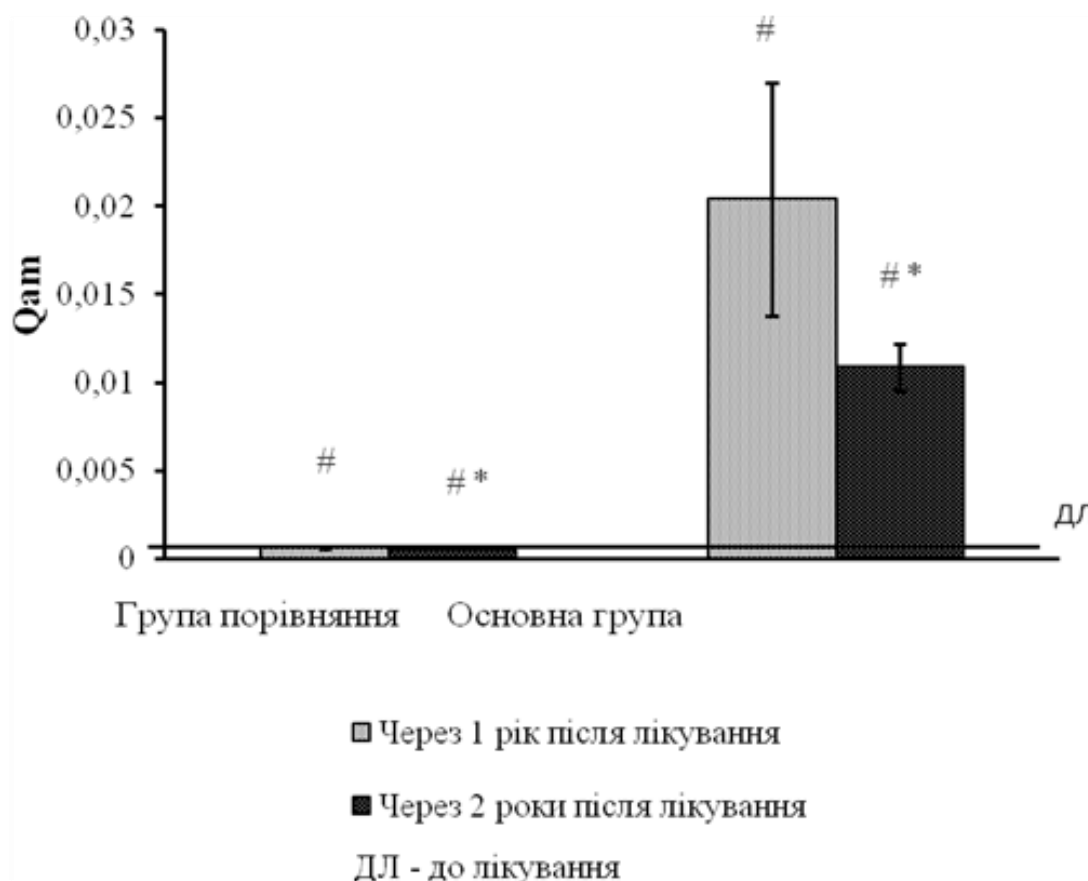


Рис. 6.4. Середня об'ємна швидкість Q_{am} мл/сек.

Примітка: Основна група – плазмгель + ГК + i-PRF, # – вірогідна розбіжність від показника до лікування, * – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування, вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

При співставленні після лікування груп порівняння та основної видно вірогідну різницю. Показник в групі порівняння через 1 рік – $0,0006 \pm 0,0001$ мл/сек., через 2 роки – $0,0005 \pm 0,00001$ мл/сек. В основній групі показник через 1 рік становив $0,0204 \pm 0,0030$ мл/сек., а через 2 роки – $0,0109 \pm 0,0006$ мл/сек.

Даний показник після проведеного лікування в групі порівняння не має вірогідних відмінностей від групи пацієнтів до лікування, він так само лишається на мінімальних значеннях.

Кількісний аналіз доплерівських кривих ґрунтувався не тільки на оцінці величин швидкостей кровотоку, але і розрахунку індексів пульсації (Гослінга), і периферичного опору (Пурсело). Значення даних індексів розраховувалися приладом автоматично. На рис. 6.5 представлена динаміка індексу Гослінга, після проведеного пародонтологічного лікування.

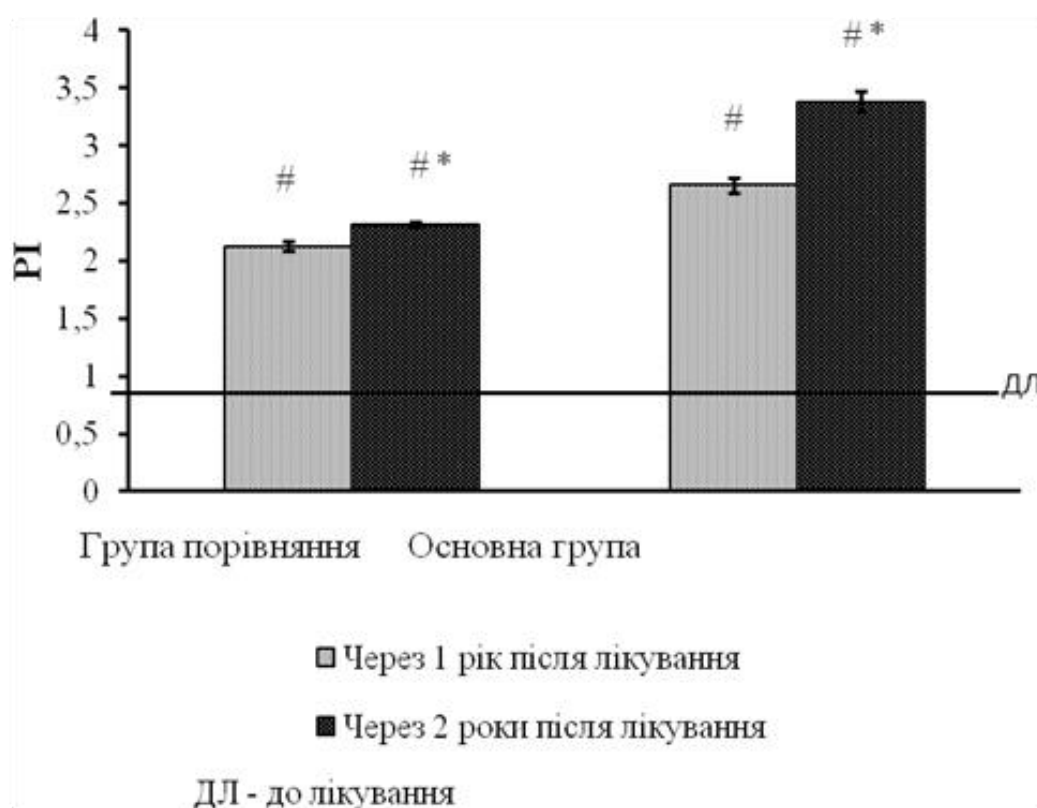


Рис. 6.5. PI індекс пульсації (Гослінга).

П р и м і т к а : Основна група – плазмогель + ГК + i-PRF, # – вірогідна розбіжність від показника до лікування, * – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування, вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

Індекс пульсації має тенденцію до збільшення в процесі лікування, більш високі показники спостерігаються в основній групі лікування, що свідчить про значну кількість новоутворених судин, відбувається процес неоангіогенезу.

Динаміку зміни індексу периферичного опору (Пурсело), що відображає стан опору кровотоку дистальніше місця вимірювання, представлено на рис. 6.6

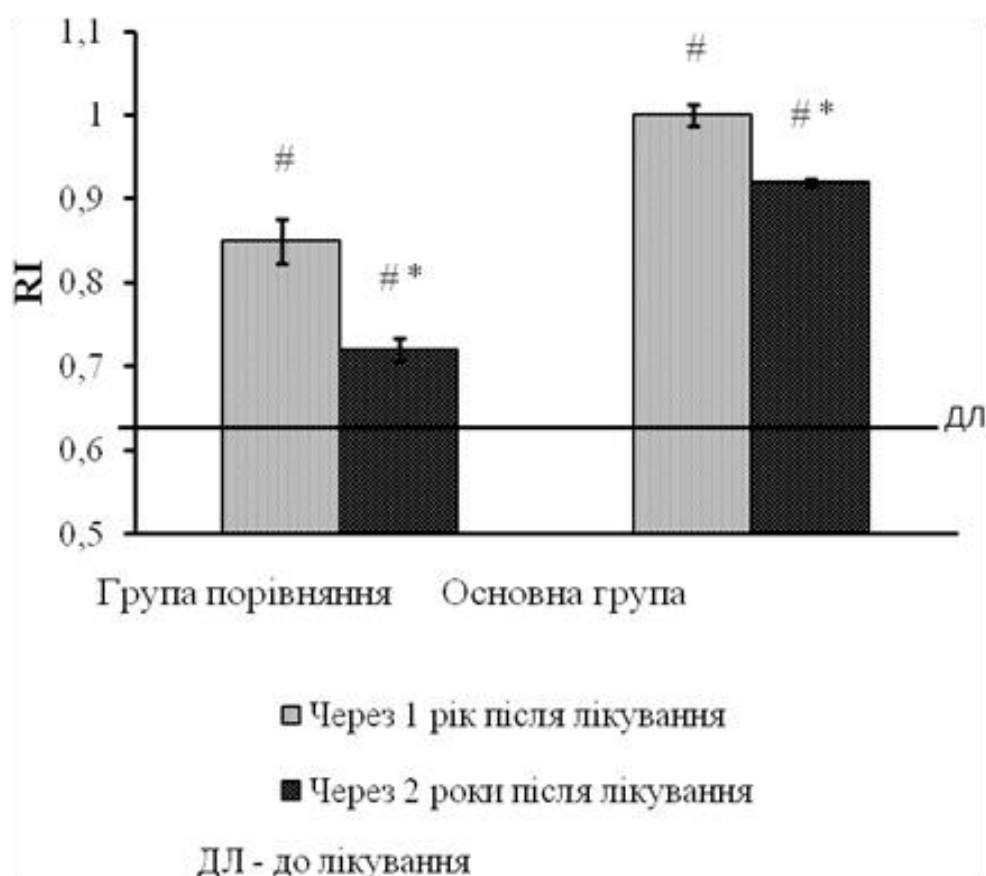


Рис. 6.6. RI індекс опору (Пурсело).

Примітка: Основна група – плазмгель + ГК + i-PRF, # – вірогідна розбіжність від показника до лікування, * – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування, вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

Периферичний опір збільшується більш інтенсивно в основній групі, що свідчить про більшу кількість мікросудин в пародонтальних тканинах, які зберігаються і після закінчення лікування. Індекс периферичного опору підвищується в обох групах, але більш виражено в основній групі: через 1 рік $-0,945 \pm 0,006$, через 2 роки $-0,995 \pm 0,002$.

Результати ультразвукової доплерографії після хірургічного регенеративного лікування

Ультразвукова доплерографія дозволяє не тільки оцінити загальний рівень периферичної перфузії, але і виявити особливості кровотоку в мікроциркуляторному руслі в зоні загоєння, що особливо важливо при оцінці репаративного процесу.

В результаті обробки доплерограм, на різних термінах спостереження, були отримані дані про динаміку лінійних і об'ємних швидкостей кровотоку.

На рисунку відображені показники середньої лінійної швидкості кровотоку (рис. 6.7).

Після проведеного хірургічного лікування показники гемодинаміки в групі порівняння складалі: через 1 рік $-0,198 \pm 0,01$ см/сек., через 2 роки $-0,116 \pm 0,010$ см/сек. В основній групі: через 1 рік $-0,355 \pm 0,030$ см/сек, через 2 роки $-0,211 \pm 0,016$ см/сек. В обох групах у віддаленому терміні спостереження, через 2 роки, відбувається вірогідне зниження показнику, що дає можливість припустити, що навіть після хірургічного втручання з метою регенерації тканин пародонту при важкому ступеню дистрофічних уражень, без підтримуючої терапії з введенням препаратів аутоплазми, ін'єкційно кожні 6 місяців, мікроциркуляція в скомпрометованих тканинах починає погіршуватись.

На рисунку 6.8 представлена динаміка максимальної систолічної швидкості кровотоку. В обох групах через рік після хірургічного втручання відбувається вірогідне підвищення показників відносно групи до лікування, в групі порівняння – $1,252 \pm 0,057$ см/сек., в основній групі – $1,889 \pm 0,11$ см/сек.

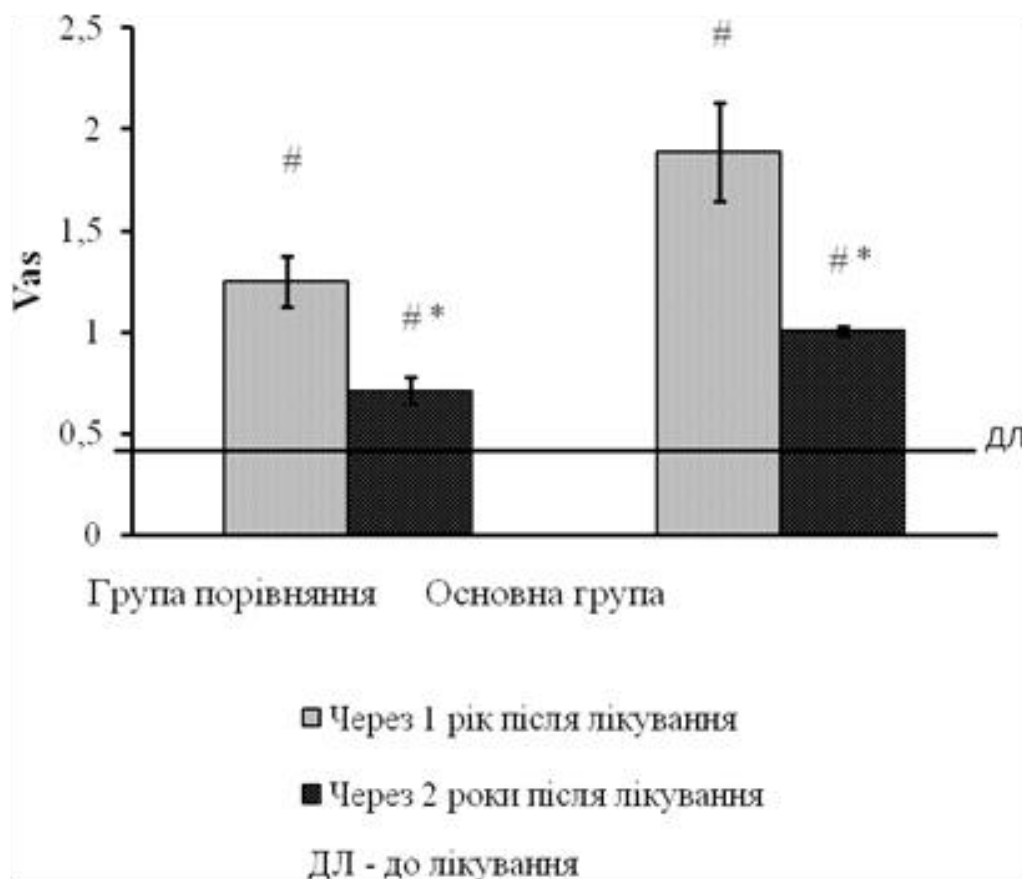


Рис. 6.7. Середня лінійна швидкість кровотоку $V_{ам}$, см/сек.

Примітка:

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

* – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування,

вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

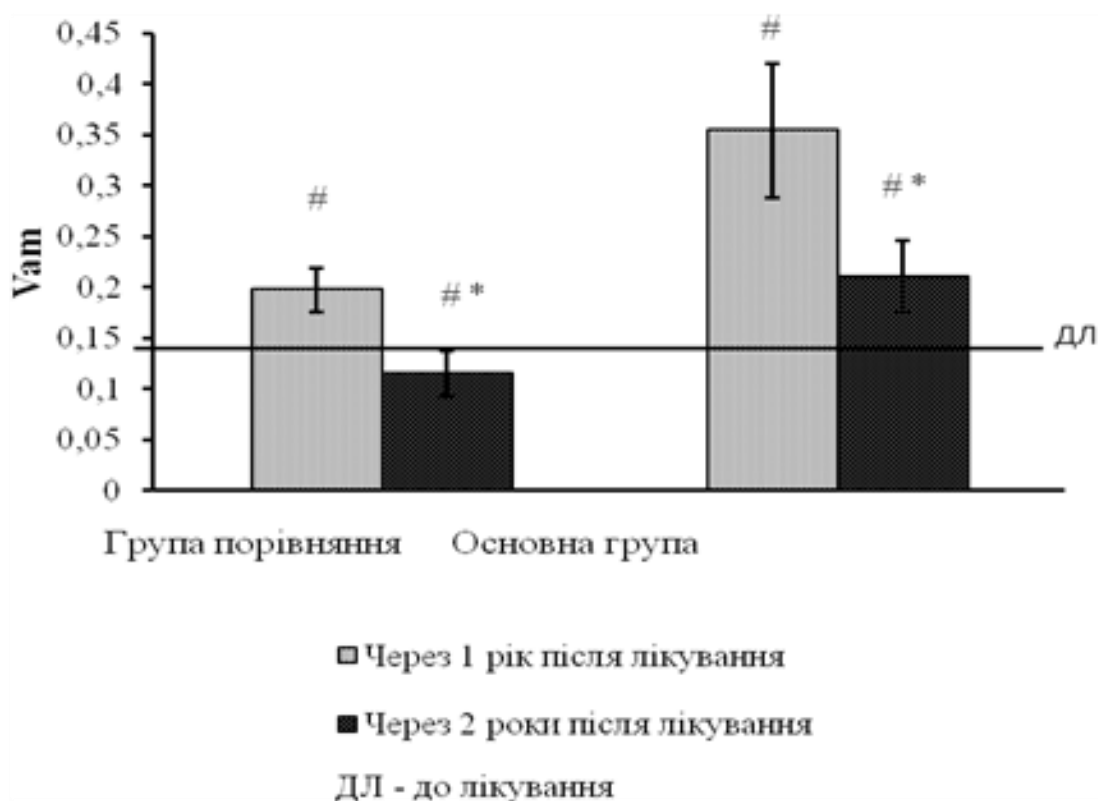


Рис. 6.8. Максимальна систолічна швидкість кровотоку V_{as} , см/сек.

Примітка:

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

* – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування,

вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

Діаграма на рисунку 6.9 відображає об'ємну систолічну швидкість кровотоку. Показники систолічної об'ємної швидкості кровотоку в основній групі через 1 рік – $0,196 \pm 0,009$ мл/сек, через 2 роки – $0,0314 \pm 0,022$ мл/сек.

В групі порівняння, через 1 рік – $0,064 \pm 0,002$ мл/сек., через 2 роки – $0,0335 \pm 0,0008$ мл/сек. При збільшенні об'ємної швидкості кровотоку

збільшується площа капілярної фільтрації, а, отже, і величина транскапілярного обміну в тканинах.

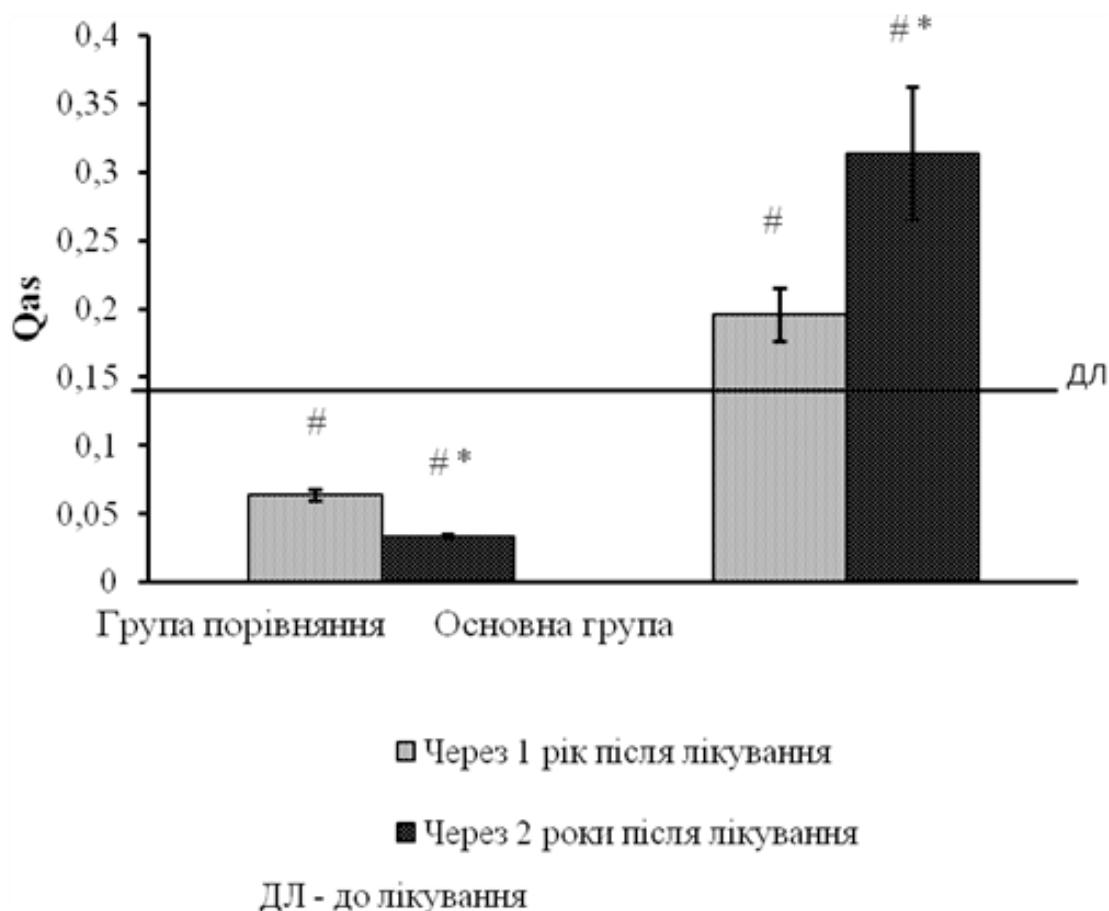


Рис. 6.9. Об'ємна систолічна швидкість кровотоку Q_{as} , мл/сек.

Примітка:

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

* – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування,

вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

На рисунку 6.10 представлена динаміка середньої об'ємної швидкості кровотоку. В основній групі відбувається вірогідне збільшення кровотоку,

особливо через 1 рік після лікування $0,0041 \pm 0,0002$ мл/сек, відносно групи порівняння – $0,0018 \pm 0,0001$ мл/сек. Через 2 роки в основній групі – $0,0022 \pm 0,0001$ мл/сек., в групі порівняння – $0,0010 \pm 0,0001$ мл/сек.

Збільшення кровотоку в першому терміні спостереження може свідчити про збільшення площі новоутворених мікрокапілярів, а отже покращення мікроциркуляції та трофіки прооперованої області.

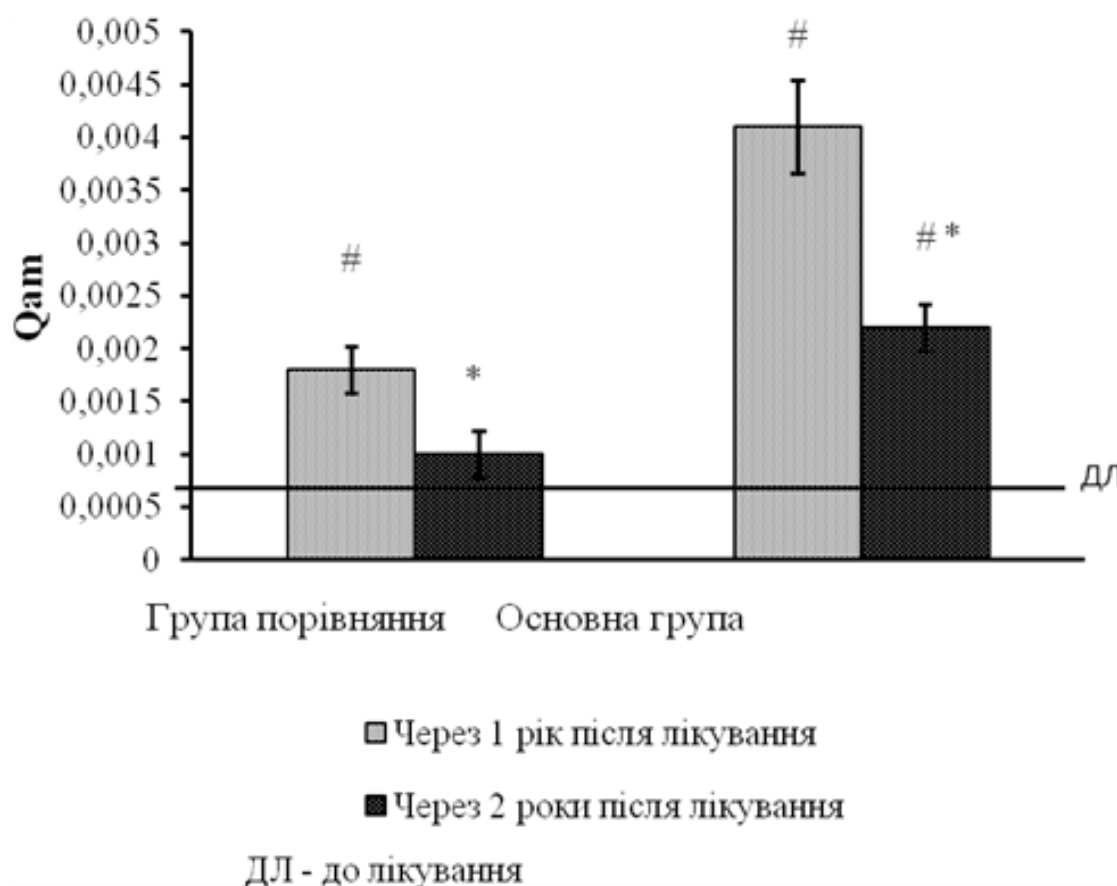


Рис. 6.10. Середня об'ємна швидкість Q_{am} , мл/сек.

Примітка:

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

* – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування,
вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

Індекс пульсації представлено на рис. 6.11, має тенденцію до зниження через 2 роки після хірургічного лікування в обох групах. Більш високий його показник в обох групах через 1 рік свідчить про значну кількість новоутворених судин, тобто триваючому неоангіогенезі. Індекс пульсації знижується, тобто судинний опір кровотоку зменшується.

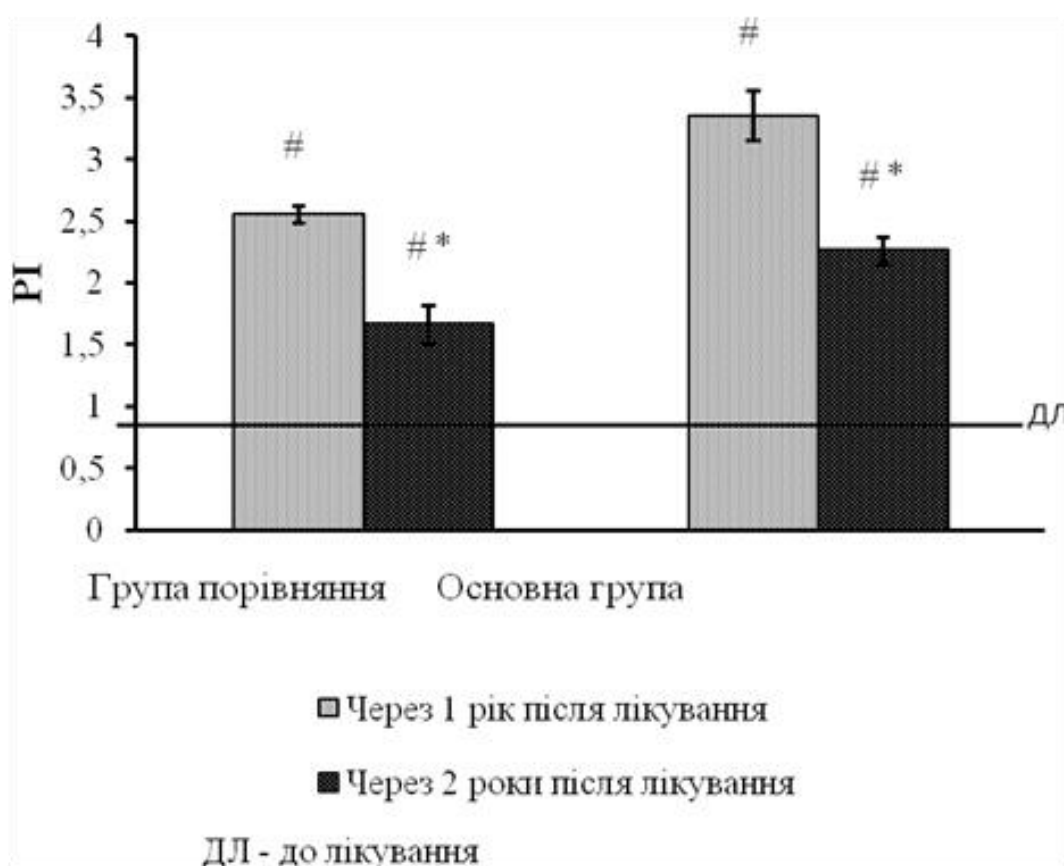


Рис. 6.11. РІ індекс пульсації (Гослінга).

Примітка:

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

* – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування,

вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

На рисунку 6.12 представлено індекс опору. В обох групах після проведеного лікування він збільшується. Його показник через 1 рік, у основній групі становить $1,0 \pm 0,01$, у групі порівняння $0,85 \pm 0,01$. Через 2 роки відбувається невірогідне зниження показника в обох групах, в основній до $0,92 \pm 0,06$ і в групі порівняння до $0,72 \pm 0,005$.

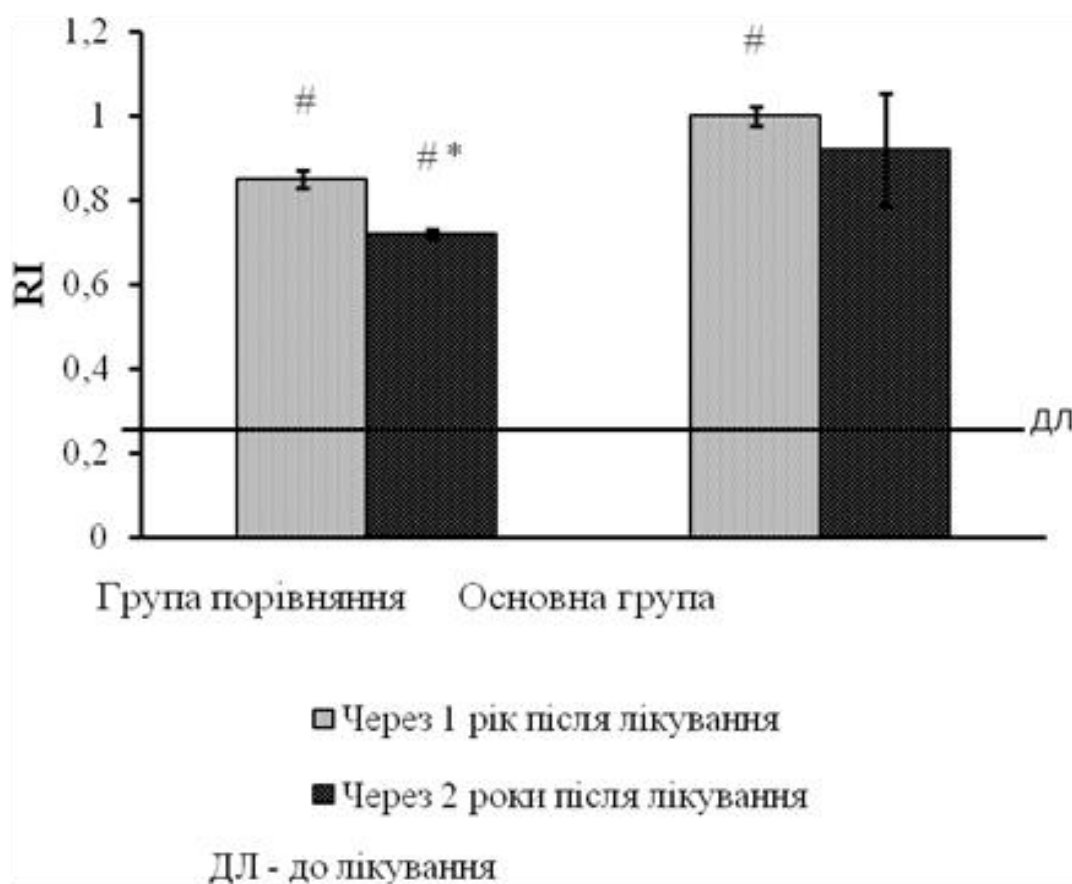


Рис. 6.12. RI індекс опору (Пурсело).

Примітка:

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

* – вірогідна розбіжність від показника через рік після лікування,

вертикальні риси – довірчі інтервали при $p = 0,05$.

6.4 Оцінка лікування консервативними регенеративними методиками за біохімічними показниками в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом

У таблиці 6.11 представлені результати дослідження впливу ін'єкційного введення препаратів аутоплазми на активність каталази в ротовій рідині хворих на ГП.

Каталаза забезпечує розкладання перекису водню на воду і молекулярний кисень. В цьому і полягають її антиоксидантні властивості. Перекис водню утворюється в клітинах організму в результаті деяких хімічних процесів під впливом певних ферментів. Накопичення її в організмі призводить до руйнування і загибелі клітин. Каталаза запобігає цьому процесу. Старіння організму відбувається з кількох причин. Одна з них - зменшення кількості та активності каталази в організмі. Тоді починається активне накопичення вільних радикалів, або окислювачів.

При аналізі отриманих результатів визначення активності ферменту каталази у ротовій рідині пацієнтів з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня до лікування, всі пацієнти мали знижений рівень $0,06 \pm 0,001$ мкат/л при нормі $0,30 \pm 0,02$ мкат/л.

Після проведеного лікування показник покращився у всіх групах. Але найкращі результати були отримані в групах:

- З лікувальною метою застосовували АМК і через місяць після проведеного лікування вже отримали підвищення активності каталази в 4,7 разів, у віддалені терміни спостереження показник змінювався, через 1 рік – в 4,5 разів, через 2 роки – в 4,7 разів відносно показника до лікування;

- i-PRF (5 процедур) + інстиляція ГК, активність ферменту через 1 місяць збільшення показнику було в 4,2 рази, через 1 рік – в 4,6 разів, через 2 роки показник вірогідно збільшився – в 5,3 рази;
- Плазмгель (3 процедури) + інстиляція ГК, активність ферменту через 1 місяць підвищилась в 4,5 разів, через 1 рік – в 4,8 разів, через 2 роки – в 4,7 разів;
- Плазмгель + інстиляція ГК + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців, через 1 місяць після лікування показник збільшився в 4,7 разів, а от через рік активність каталази в цій групі значно зросла у 5,3 рази, через 2 роки дещо зменшилася, але все одно лишалась на достатньо високому рівні збільшення в 4,8 разів.

Таблиця 6.11

Активність каталази в ротовій рідині пацієнтів при використанні консервативних регенеративних методик аутоплазми та гіалуронової кислоти, мкат/л

Групи	Група порівняння n=15	Група 1 Основна АМК (3 процедури) n = 14	Група 2 Основна PRP (3 процедури) n = 15	Група 3 Основна PPP (5 процедур) n = 14	Група 4 Основна i-PRF (5 процедур) n = 12	Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК n = 15	Група 6 Основна Плазмogель (3 процедури) + ГК n = 13	Група 7 Основна Плазмogель + ГК 1 введення + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців n = 14
Терміни								
Показник норми	0,30±0,02							
До лікування n=112	0,06±0,001 p<0,001							
Через 1 місяць після лікування	0,09±0,01 p<0,001 p ₁ <0,01	0,28±0,01 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,13±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,02	0,17±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,11±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,02	0,25±0,01 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,27±0,01 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,28±0,01 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 6 місяців після лікування	0,12±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001	0,26±0,02 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,18±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,17±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	0,19±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,26±0,01 p>0,1 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,26±0,02 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,29±0,02 p>0,6 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 1 рік після лікування	0,16±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001	0,27±0,02 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,19±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,20±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,02	0,16±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,9	0,28±0,01 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,29±0,02 p>0,8 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,32±0,02 p>0,6 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 2 роки після лікування	0,18±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001	0,28±0,01 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,20±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,2	0,23±0,02 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,27±0,02 p>0,3 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,32±0,01 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,28±0,02 p>0,5 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,29±0,01 p>0,8 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

П р и м і т к а : p - вірогідність відмінностей від норми; p₁ – вірогідність відмінностей від групи до лікування; p₂ – вірогідність відмінностей від групи порівняння.

У таблиці 6.12 представлені результати дослідження впливу ін'єкційного введення препаратів аутоплазми на активність еластази в ротовій рідині хворих на ГП. Еластаза - є біохімічним маркером запалення. Проведений аналіз активності еластази ротової рідини пацієнтів з ГП II-III ступеня важкості, хронічного перебігу дозволив виявити достовірне підвищення даного показника $3,27 \pm 0,24$ мккат / л щодо норми $0,60 \pm 0,03$ мккат / л. Активність еластази ротової рідини пацієнтів групи порівняння, які отримували стандартний комплекс лікувальних заходів, після лікування знижувалась: через 1 місяць на 52,3 % , через 6 місяців – на 59,6 %, через 1 рік – на 51,1 % і через 2 роки – на 47,7 %.

У пацієнтів 7-ми основних груп, які отримували комплекс лікувальних заходів з препаратами аутоплазми, відзначено вірогідне зниження еластазної активності щодо показника до лікування на всіх термінах спостереження ($p_1 < 0,001$).

У групі пацієнтів із застосуванням АМК і і-PRF, виявлено більш низький рівень активності еластази у віддалені терміни після проведеного лікування. У групі пацієнтів з використанням АМК через 2 роки показник знизився на 75,5 %, в групі і-PRF на 63,3 %, що вірогідно відрізняється від показника в групі порівняння.

При цьому в групах, що отримували препарати аутоплазми PRP – зниження активності еластази відбулося на 54,1 % та в групі, яка отримувала препарат PPP – на 51,7 %, що значно менш активно зменшувало запалення у порівнянні з групами АМК та і-PRF. В групі і-PRF (5 процедур) + інстиляція ГК зниження відбулося на 83,5 %, в Плазмгель (3 процедури) + інстиляція ГК – на 71,9 %, в групі Плазмгель + інстиляція ГК + і-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців – на 83,2 %.

Таблиця 6.12

Активність еластази в ротовій рідині пацієнтів на генералізований пародонтит II-III ступеня, мккат/л

Групи Терміни	Група порівняння n=15	Група 1 Основна АМК (3 процедури) n=14	Група 2 Основна PRP (3 процедури) n=12	Група 3 Основна PPP (5 процедур) n=13	Група 4 Основна i- PRF (5 процедур) n=12	Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК n=15	Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК n=12	Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців n = 15
Показник норми	0,60±0,03							
До лікування n = 112	3,27±0,24 p<0,001							
Через 1 місяць після лікування	1,56±0,10 p<0,001 p ₁ <0,001	0,78±0,06 p>0,1 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	1,58±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,9	1,32±0,10 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,2	1,10±0,07 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,002	0,54 ±0,03 p<0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,90±0,08 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,87±0,06 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 6 місяців після лікування	1,32±0,11 p<0,001 p ₁ <0,001	0,76±0,05 p>0,1 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	1,50±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,8	1,44±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,5	1,0±0,06 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,02	0,60±0,04 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	1,0±0,10 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	1,08±0,08 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,1
Через 1 рік після лікування	1,60±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001	0,68±0,04 p>0,6 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	1,65±0,10 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,8	1,56±0,11 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,8	1,12±0,07 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,54±0,03 p<0,002 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,94±0,09 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,58±0,03 p>0,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 2 роки після лікування	1,71±0,10 p<0,001 p ₁ <0,001	0,80±0,05 p<0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	1,50±0,10 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,2	1,58±0,10 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,4	1,20±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,002	0,56±0,04 p>0,1 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,92±0,08 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,55±0,03 p>0,25 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітка: p- вірогідність відмінностей від норми; p₁- вірогідність відмінностей від групи до лікування; p₂ – вірогідність відмінностей від групи порівняння.

Що вказує на позитивну динаміку зменшення запалення в тканинах пародонта та стійку ремісію в групах, які отримували в групах з АМК та і-PRF, але найбільш виражені зміни показнику визначені в групах з комбінованим застосуванням препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти.

У таблиці 6.13 представлений показник вмісту МДА у ротовій рідині в усі терміни спостереження. З цих даних видно, що таким же чином розподілились показники ще одного маркера запалення - малонового діальдегіду (МДА), рівень якого відображає інтенсивність перекисного окиснення ліпідів. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів, як показника запальних процесів, була вірогідно вища від показника норми в 3,8 разів ($p < 0,001$).

З представлених даних видно, що зниження показника після проведеного лікування відбулося у всіх групах ($p_1 < 0,001$).

Однак, зменшення МДА відзначено у ротовій рідині групи хворих, які отримували АМК: через 1 місяць - на 65,8 %, через 6 місяців – на 68,5 %, через 1 рік – на 69,7 % і через 2 роки – на 68,5 %, після проведеного курсу лікування, показник практично зрівнявся з даними норми $0,20 \pm 0,02$ ммоль / л. Також вірогідні дані зниження вмісту МДА у віддалені терміни після лікування були отримані в групах з PRP – на 57,9 % і з і-PRF - на 57,9 % у порівнянні з групою порівняння $0,40 \pm 0,03$ ммоль / л ($p_2 < 0,05$).

У групі, яка в комплексі лікування отримувала PRP, відзначалася тільки тенденція до зниження вмісту МДА на 35,6 %.

В групах, які отримували комбіновану методику застосування препаратів аутоплазми та гіалуронову кислоту отримали наступні дані: в п'ятій групі через 1 місяць зниження відбулося на 71,1 %, через 1 рік – на 67,1 %, через 2 роки – на 68,5 %; в шостій групі через 1 місяць на 36,9 %, через 1 рік – на 52,7 %, через 2 роки – на 59,3 %; в сьомій групі через місяць – на 39,5 %, через 1 рік – на 76,4 %, а через 2 роки – на 72,4 %.

Таблиця 6.13

Оцінка вмісту МДА в ротовій рідині пацієнтів на генералізований пародонтит II-III ступеня, ммоль/л

Групи Терміни	Група порівняння n = 15	Група 1 Основна АМК (3 процедури) n = 14	Група 2 Основна PRP (3 процедури) n = 15	Група 3 Основна PPP (5 процедур) n = 14	Група 4 Основна i-PRF (5 процедур) n = 12	Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК n = 15	Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК n = 13	Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців n = 14
Показник норми	0,20±0,02							
До лікування n = 112	0,76±0,05 p<0,001							
Через 1 місяць після лікування	0,43±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001	0,26±0,02 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,39±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,3	0,36±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,1	0,44±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,8	0,22±0,02 p>0,5 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,48±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,9	0,46±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,8
Через 6 місяців після лікування	0,39±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001	0,24±0,02 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,33±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,45±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,36±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,4	0,23±0,03 p>0,5 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,36±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,5	0,34±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,7
Через 1 рік після лікування	0,35±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001	0,23±0,02 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,36±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,7	0,39±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,2	0,30±0,02 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ >0,1	0,25±0,02 p>0,1 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	0,36±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,8	0,18±0,01 p>0,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 2 роки після лікування	0,40±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001	0,24±0,01 p>0,1 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,32±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,49±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,32±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,24±0,02 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,31±0,03 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,21±0,02 p>0,8 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітка: p- вірогідність відмінностей від норми; p₁- вірогідність відмінностей від групи до лікування; p₂ – вірогідність відмінностей від групи порівняння.

Гіалуронова кислота представлена практично у всіх тканинах організму. Синтез гіалуронової кислоти здійснюється на внутрішній поверхні плазматичної мембрани фібробластів за допомогою ферментів гіалуронатсинтез, по мірі формування ланцюга гіалуронова кислота виводиться через мембрану на зовнішню поверхню клітини. Це самий швидко оновлюваний компонент позаклітинного матриксу, тривалість життя якого становить всього декілька днів. Гіалуронова кислота здатна утворювати в'язкий гель, який забезпечує тургор тканин і нормальний перебіг фізіологічних процесів в клітинах і міжклітинному просторі. Властивість гіалуронової кислоти утримувати воду призводить до набряку в основній субстанції і до здатності проникнення водорозчинних речовин. Гіалуронова кислота має також детоксикаційні властивості. Наявність гідрофільних і гідрофобних ділянок в ланцюзі гіалуронової кислоти формує особливу просторову структуру з осередками різного розміру, які здатні затримувати великі молекули. В процесі старіння гіалуронова кислота піддається якісним і кількісним змінам. Не викликає сумнівів висновок про зниження біодоступності гіалуронової кислоти як за рахунок зниження синтезу ендогенної гіалуронової кислоти, так і за рахунок її пов'язаної фракції. Необоротне зв'язування гіалуронової кислоти з рецепторами призводить до виснаження рецепторопосередкованої стимуляції клітин, зокрема, фібробластів. В області стоматології гіалуронова кислота показала протизапальну і антибактеріальну дію при лікуванні захворювань пародонту. Завдяки своїм властивостям загоєння тканин його можна використовувати в якості доповнення до механічної терапії при лікуванні пародонтиту.

При дослідженні вмісту гіалуронової кислоти в ротовій рідині у всіх пацієнтів хворих на генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II – III ступеня встановлено різке зниження показника $30,2 \pm 1,5$ мг/л відносно норми $52,8 \pm 2,0$ мг/л (табл. 6.14).

Таблиця 6.14

Оцінка вмісту гіалуронової кислоти в ротовій рідині пацієнтів, мг/л

Групи Терміни	Група сравнения n = 15	Група 1 Основна АМК (3 процедури) n = 14	Група 2 Основна PRP (3 процедури) n = 15	Група 3 Основна PPP (5 процедур) n = 14	Група 4 Основна i-PRF (5 процедур) n = 12	Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК n = 15	Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК n = 13	Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення + i-PRF (5 роцедур) кожні бміс. n = 14
Показник норми	52,8 ± 2,0							
До лікування n = 73	30,2 ± 1,5 p<0,001							
Через 1 місяць після лікування	30,9±1,1 p < 0,001 p ₁ > 0,8	50,5±2,2 p > 0,7 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	48,3±2,2 p < 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	44,5±2,1 p < 0,02 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	41,5±2,1 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	45,6±2,7 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	49,6±2,1 p > 0,1 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	51,6±3,1 p > 0,7 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 6 місяців після лікування	40,3±1,2 p < 0,001 p ₁ < 0,001	39,6±1,2 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,8	41,5±2,1 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,8	36,3±1,2 p < 0,001 p ₁ < 0,002 p ₂ < 0,02	40,3±2,2 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,9	39,7±1,1 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,9	46,5±2,5 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05	52,2±2,2 p > 0,9 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 1 рік після лікування	38,4±1,1 p < 0,001 p ₁ < 0,001	38,4±1,3 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,9	40,4±2,2 p < 0,001 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,4	37,4±1,3 p < 0,001 p ₁ < 0,01 p ₂ > 0,9	38,5±1,2 p < 0,001 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,9	42,5±2,3 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1	44,8±2,2 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05	55,7±2,5 p > 0,4 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 2 роки після лікування	35,8±1,2 p < 0,001 p ₁ < 0,01	44,6±2,2 p < 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002	37,6±1,2 p < 0,01 p ₁ < 0,002 p ₂ > 0,3	35,2±1,2 p < 0,001 p ₁ < 0,02 p ₂ > 0,9	37,6±1,3 p < 0,001 p ₁ < 0,01 p ₂ > 0,9	44,1±2,4 p < 0,02 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	40,4±2,3 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1	53,4±2,1 p > 0,7 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Примітка: p-вірогідність відмінностей від норми; p₁- вірогідність відмінностей від групи до лікування; p₂ – вірогідність від групи порівняння

Після проведеного лікування у всіх основних групах відбулося вірогідне підвищення показнику, на відміну від групи порівняння, де показник вмісту гіалуронової кислоти підвищився всього на 2,3 %, а через 2 роки на 15,6 %.

Найбільш суттєве підвищення вмісту ГК відносно групи порівняння зафіксовані в групах, де хворі отримували для лікування АМК: через 1 місяць на 40,2 %, через 2 роки – на 32,3 %. В групі де отримували комбінацію препаратів плазмогелю, ГК та і-PRF збільшення через 1 місяць становило 41,4 %, через 2 роки – 43,5 %.

В групах де для лікування використовували препарат ГК (групи 5, 6, 7) зберігаються високі показники вмісту в довготривалі терміни спостереження. В групі 5, через рік показник становив $42,5 \pm 2,3$ мг/л, через 2 роки - $44,1 \pm 2,4$ мг/л. В групі 6, через 1 рік - $44,8 \pm 2,2$ мг/л, через 2 роки - $40,4 \pm 2,3$ мг/л. І в групі 7 показники у віддалені терміни спостереження навіть мали тенденцію до збільшення, через 1 рік - $55,7 \pm 2,5$ мг/л, через 2 роки - $53,4 \pm 2,1$ мг/л.

В групах, в яких з лікувальною метою застосовували тільки ін'єкційні методики аутоплазми (групи 2, 3, 4) на початкових термінах спостереження вміст ГК був вірогідно високим, але в віддалених термінах результат вірогідно знижувався. В групі з PRP через 1 місяць показник збільшився на 37,5 % проти групи до лікування, через 1 рік – 25,3 %, через 2 роки – 19,7 %. В групі PPP, підвищення на через 1 місяць – 32,2 %, через 1 рік – на 19,3 %, через 2 роки – на 14,2 %. В групі і-PRF збільшення показнику, через 1 місяць – на 27,2 %, через рік – на 21,6 % і через 2 роки – 19,7 %.

Отримані результати по визначенню вмісту гіалуронової кислоти в ротовій рідині хворих дають можливість зробити висновок, що її рівень після лікування препаратами аутоплазми та препаратом ГК на ранішніх термінах спостереження був високим у всіх групах, але у віддалених термінах лікування ця сполука зберігалась в групах з введенням самої ГК, а

найбільш довготривалий ефект отримали в групі з комбінованою терапією плазмогелем, ГК та і-PRF. Це говорить про те, що препарати аутоплазми і ГК збільшують продукцію власної ГК, але через 6 місяців необхідно проводити підтримуючу терапію препаратом аутоплазми для утримання терапевтичного ефекту.

Проводили і визначення активності уреаз, ферменту, активність якого відображає ступінь обсіменіння умовно-патогенною та патогенною мікробіотою ротової порожнини. Результати цього дослідження відображені в табл. 6.15. Аналіз активності уреаз виявив високий рівень цього показника в ротовій рідині в 6,04 рази у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом, II-III ступеня важкості до лікування від показнику норми.

У всіх пролікованих групах активність уреаз знижувалась, що говорить про істотне зменшення контамінації ротової порожнини патогенними бактеріями.

В групі порівняння показник знизився через 1 місяць – на 41,5 %, через 2 роки – 54,1 %. В групі АМК через 1 місяць – на 71,4 %, через 2 роки – на 79,5 %. В групі PRP через 1 місяць – на 63,3 %, через 2 роки – 75,8 %. В групі PPP через 1 місяць – 68,02 %, через 2 роки – 72,1 %. В групі і-PRF через місяць – 64,8 %, через 2 роки – 69,9 %.

В групах з комбінованим застосуванням препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти показник мав найбільш вірогідне зниження і становив в групі 5, через 1 місяць зниження на 80,9 %, через 2 роки – на 81,7 %. В групі 6 через 1 місяць на 72,8 %, через 2 роки – на 82,4 %. В групі 7 через 1 місяць на 75 %, через 2 роки – на 83,1 %.

Таблиця 6.15

Оцінка активності уреаз в ротовій рідині пацієнтів, мккат/л

Групи Терміни		Група 1 Основна АМК (3 процедури) n = 14	Група 2 Основна PRP (3 процедури) n = 15	Група 3 Основна PPP (5 процедур) n = 14	Група 4 Основна i-PRF (5 процедур) n = 12	Група 5 Основна i-PRF (5 процедур) + 1 введення ГК n = 15	Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК n = 13	Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення + i-PRF (5 процедур) кожні 6 місяців n = 14
Показник норми	0,045 ± 0,003							
До лікування n = 112	0,272±0,018 p<0,001							
Через 1 місяць після лікування	0,160±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001	0,078±0,004 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,100±0,05 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,087±0,006 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,096±0,010 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,052±0,003 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,074±0,002 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,068±0,004 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 6 місяців після лікування	0,154±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001	0,065±0,002 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,092±0,06 p<0,001 p ₁ <0,02 p ₂ <0,001	0,070±0,005 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,112±0,010 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,050±0,002 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,065±0,003 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,063±0,003 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 1 рік після лікування	0,146±0,08 p<0,001 p ₁ <0,001	0,050±0,003 p>0,25 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,084±0,05 p>0,5 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,060±0,004 p>0,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,096±0,005 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,046±0,003 p>0,9 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,054±0,003 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,044±0,002 p>0,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 2 роки після лікування	0,125±0,10 p<0,001 p ₁ <0,001	0,056±0,003 p<0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,066±0,005 p<0,002 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,076±0,04 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,082±0,004 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,050±0,002 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,048±0,004 p>0,6 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,046±0,001 p>0,6 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітка: p- вірогідність відмінностей від норми; p₁- вірогідність відмінностей від групи до лікування; p₂ – вірогідність відмінностей від групи порівняння

Порушення неспецифічної резистентності виявляли за допомогою визначення активності лізоциму та уреазі, як прогностичних факторів дисбіозу порожнини рота у пацієнтів з ГП.

Активність уреазі - маркер мікробного обсіменіння. Лізоцим - показник неспецифічного антимікробного захисту.

Ферментом ротової рідини, що грає одну з провідних ролей в природному неспецифічному імунітеті, є лізоцим, джерелом якого в ротовій рідині є епітеліальні клітини слинних залоз, емігрувавши лейкоцити і мікроорганізми. У лізісі бактерій в ротовій порожнині бере участь ряд гідролаз, серед яких особливе місце займає лізоцим. Лізоцим гідролізує муреїн бактеріальної стінки грампозитивних бактерій викликає пошкодження в ній макромолекул, що в подальшому призводить до загибелі мікроорганізму. Лізоцим бере участь в захисних імунних реакціях організму. Така важлива роль лізоциму для ротової порожнини стала підставою для дослідження його активності в змішаній слині хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу II-III ступеня важкості. Результати визначення рівня лізоциму в змішаній слині представлені в таблиці 6.16.

З представлених даних видно, що у хворих на генералізований пародонтит до лікування активність лізоциму знижена в порівнянні з показником норми, що може бути пов'язано зі збільшенням кількості емігруючих неактивних нейтрофілів, зростанням рівня рибонуклеази, що призводить до зниження антибактеріальної активності лізоциму. Поглинання лізоциму тканинами ясен, адсорбція його на поверхні колагену в результаті підвищеної проникності тканин пародонта при запаленні також пов'язано зі зниженням рівня лізоциму в слині.

Аналіз біохімічних досліджень активності лізоциму дозволяє зробити висновок, що хронічний запальний процес в пародонті у обстежених осіб протікає на тлі зниження антимікробного захисту ротової порожнини.

Таблиця 6.16

Оцінка активності лізоциму в ротовій рідині пацієнтів, ед/л

Групи Терміни	Група порівняння n = 15	Група 1 Основна АМК (3 процедури) n = 14	Група 2 Основна PRP (3 процедури) n = 15	Група 3 Основна PRP (5 процедур) n = 14	Група 4 Основна PRF (5 процедур) n = 12	Група 5 Основна PRF (5 процедур) + 1 введення ГК n = 15	Група 6 Основна Плазмгель (3 процедури) + ГК n = 13	Група 7 Основна Плазмгель + ГК 1 введення +PRF (5 роцедур) кожні 6місяців n = 14
Показник норми	175±9							
До лікування n = 112	65±3 p<0,001							
Через 1 місяць після лікування	98±7 p<0,001 p ₁ <0,001	160±10 p>0,3 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	122±9 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	126±10 p<0,002 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	138±10 p<0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	136±11 p<0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	145±9 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	148±8 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 6 місяців після лікування	100±8 p<0,001 p ₁ <0,001	156±11 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	132±10 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	120±9 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,2	142±8 p<0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,002	128±10 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	152±11 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,002	150±6 p>0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 1 рік після лікування	112±7 p<0,001 p ₁ <0,001	162±12 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	122±10 p<0,002 p ₁ <0,001 p ₂ >0,5	130±10 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ >0,2	138±9 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	140±12 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ >0,5	160±14 p>0,4 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	177±8 p>0,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Через 2 роки після лікування	105±9 p<0,001 p ₁ <0,001	170±13 p>0,8 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	141±11 p<0,02 p ₁ <0,001 p ₂ >0,1	136±11 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	149±10 p>0,1 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	159±13 p>0,04 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	164±12 p>0,5 p ₁ <0,001 p ₂ <0,002	172±9 p>0,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітка: p- вірогідність відмінностей від норми; p₁- вірогідність відмінностей від групи до лікування; p₂ – вірогідність відмінностей від групи порівняння.

Уреаза має виключно мікробне походження. Це фермент, який виробляється лише умовно-патогенною та патогенною мікрофлорою та не виробляється представниками еубіоти та соматичними клітинами макроорганізму. Тому достатньо визначити цей показник, щоб судити про дисбіотичні зміни у порожнині рота.

Підвищення активності уреазі і одночасне зниження активності лізоциму в ротовій рідині пацієнтів з ГП свідчить про надмірне зростання умовно-патогенної і патогенної мікробіоти на тлі зниження неспецифічного антимікробного захисту в порожнині рота, що призводить до розвитку орального дисбіозу. Наслідком дисбіозу є розвиток системного запалення. Підвищення активності лізоциму в ротовій рідині підтверджує стимуляцію власної антимікробної системи порожнини рота.

В нормі в тканинах завжди підтримується баланс між прооксидантними системами і антиоксидантними системами. При запаленні цей баланс порушується в сторону збільшення рівня прооксидантних факторів.

Індекс АПІ представлений на рисунках 6.13 - 6.16, більш чутко відображає статус антиоксидантно-прооксидантних систем. Для розрахунку індекса АПІ в якості показника антиоксидантної системи використовують активність каталази, а показником прооксидантної системи – концентрацію МДА.

Отримані результатами свідчать, що на ранніх термінах після проведеного лікування найкращий результат був у групі з АМК та і-PRF терапії, та у віддалених термінах показник значно підвищується в групі з плазмогелем, гіалуроновою кислотою та і-PRF, для підтримуючої терапії кожні 6 місяців. Що говорить про здатність запропонованого методу лікування викликати індукцію антиоксидантної системи, що покращує резистентність тканин пародонту до шкідливої дії вільних радикалів та перекисів.

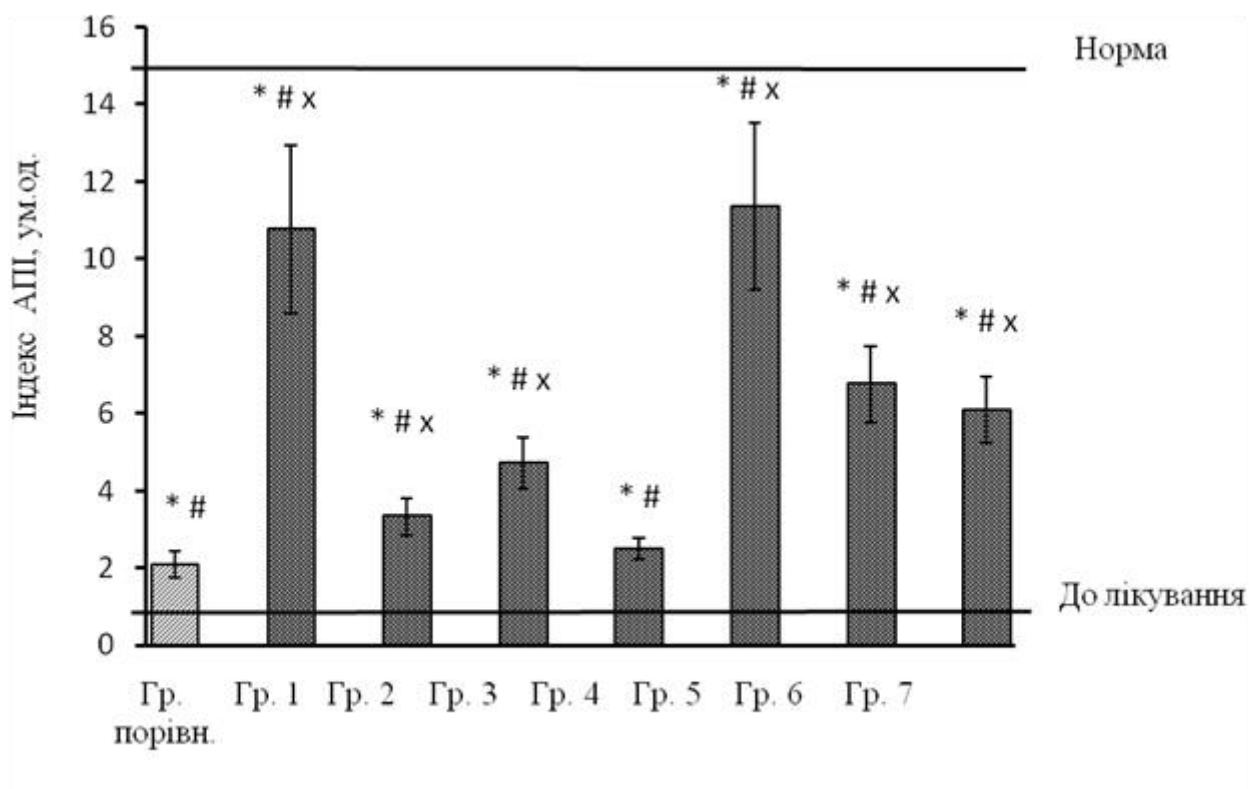


Рис. 6.13. Індекс АП в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 1 місяць після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

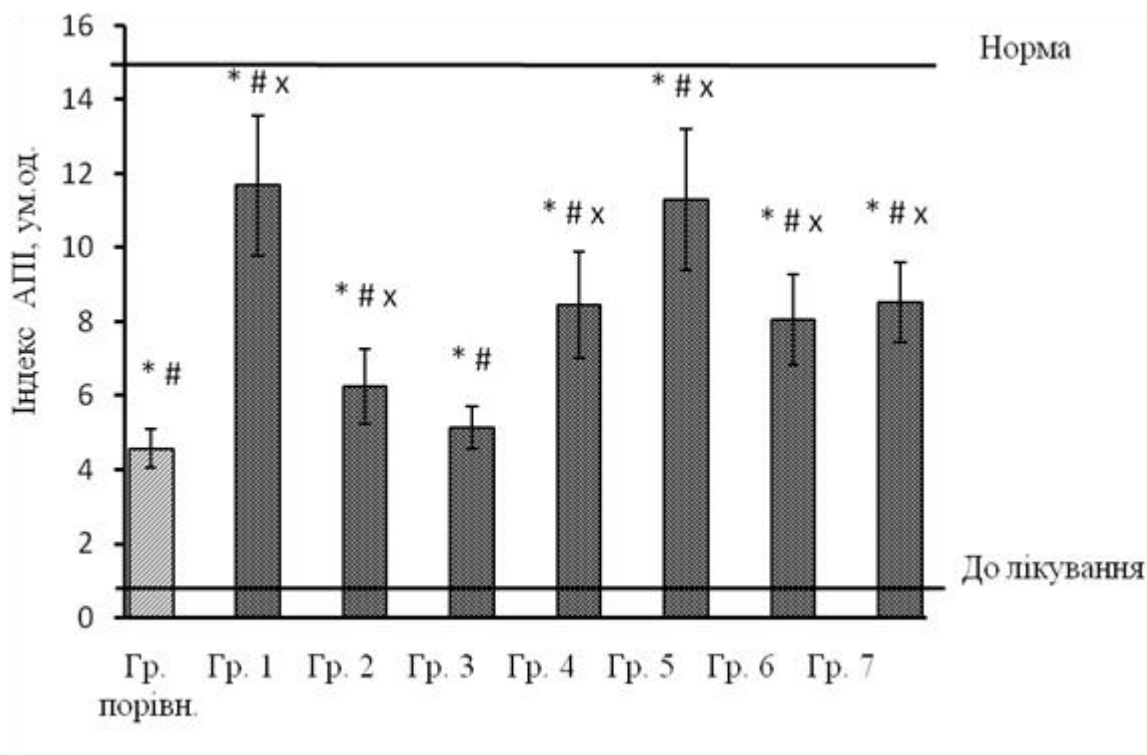


Рис. 6.14. Індекс АП в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 6 місяців після лікування.

П р и м і т к а :

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP ,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

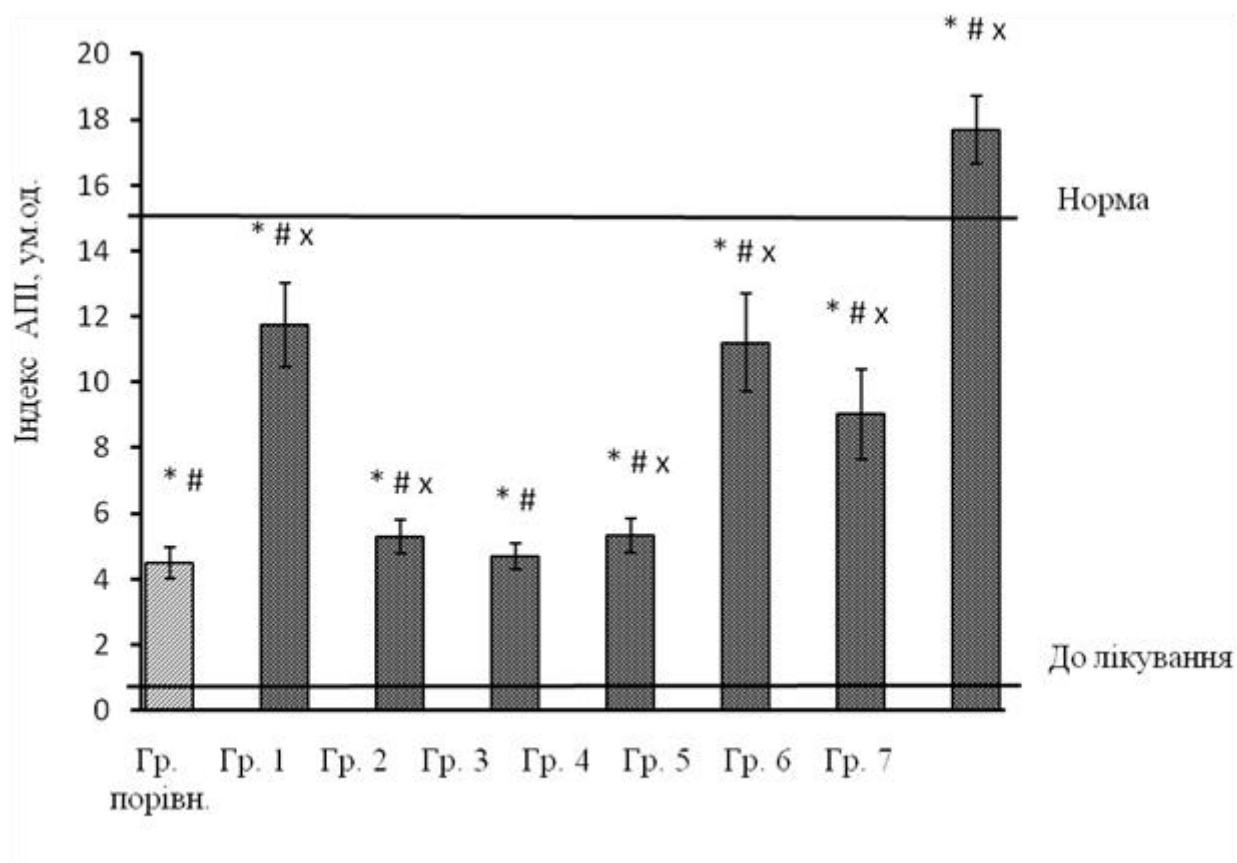


Рис. 6.15. Індекс АПІ в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 1 рік після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК ,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

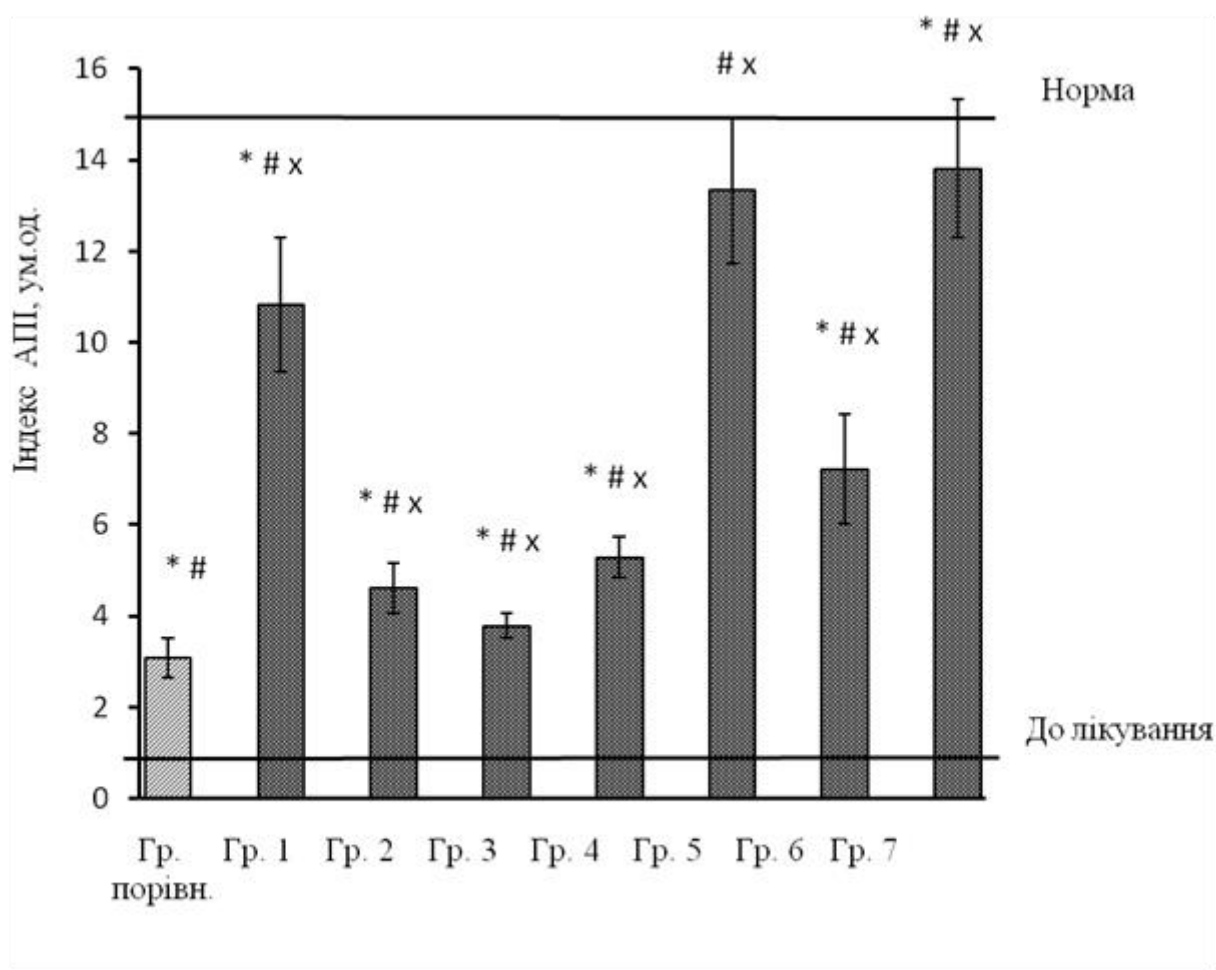


Рис. 6.16. Індекс АПІ в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 2 роки після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

Дані представлені на рис. 6.13 - 6.16 свідчать про здатність запропонованих методів лікування з препаратами аутоплазми та ГК викликати індукцію захисних факторів антиоксидантної системи, що забезпечує, в певній мірі, резистентність тканин пародонту до ушкоджуючої дії вільних радикалів і перекисів. Так в різні терміни спостереження були отримані наступні дані:

- До лікування у пацієнтів з ГП хронічного перебігу II-III ступеня показник був достовірно зниженим $1,48 \pm 0,10$ у порівнянні з нормою $17,8 \pm 1,1$;
- У групі порівняння індекс покращився через 1 місяць – $3,94 \pm 0,22$, через 6 місяців – $5,27 \pm 0,23$, через 1 рік – $4,50 \pm 0,21$, через 2 роки – $4,04 \pm 0,20$;
- Найкращі результати на ранніх термінах спостереження отримані в групах АМК – через місяць $10,8 \pm 0,84$, через півроку $12,5 \pm 0,65$. В групі i-PRF + ГК через 1 місяць – $15,78 \pm 0,10$, через 6 місяців – $14,0 \pm 0,84$. В групі плазмogель + ГК через 1 місяць – $10,76 \pm 0,75$, через 6 місяців – $10,35 \pm 0,67$. І в групі плазмogель + ГК + i-PRF через 1 місяць – $10,83 \pm 0,24$, через 6 місяців – $11,53 \pm 0,75$.
- У віддалені терміни спостереження достовірно підвищений рівень індексу АПІ в групі АМК через 1 рік – $14,5 \pm 0,74$, через 2 роки $13,0 \pm 0,52$ і в групі плазмogель + ГК + i-PRF через 1 рік – $15,5 \pm 0,72$, через 2 роки – $18,30 \pm 0,68$.

Як видно з результатів дослідження у всіх групах після лікування відбулося покращення індексу АПІ, але більш вірогідно в групах де застосовували АМК та комбіновані методики використання аутоплазми і ГК.

У групі плазмogель + ГК + i-PRF у віддалених термінах спостереження навіть відбувалось вірогідне підвищення індексу до рівня норми $18,30 \pm 0,68$. Це говорить про результат підтримуючої терапії препаратом i-PRF, який вводили кожні 6 місяців після проведення професійної гігієни.

Ступінь дисбіозу представлена на рис. 6.17 - 6.20.

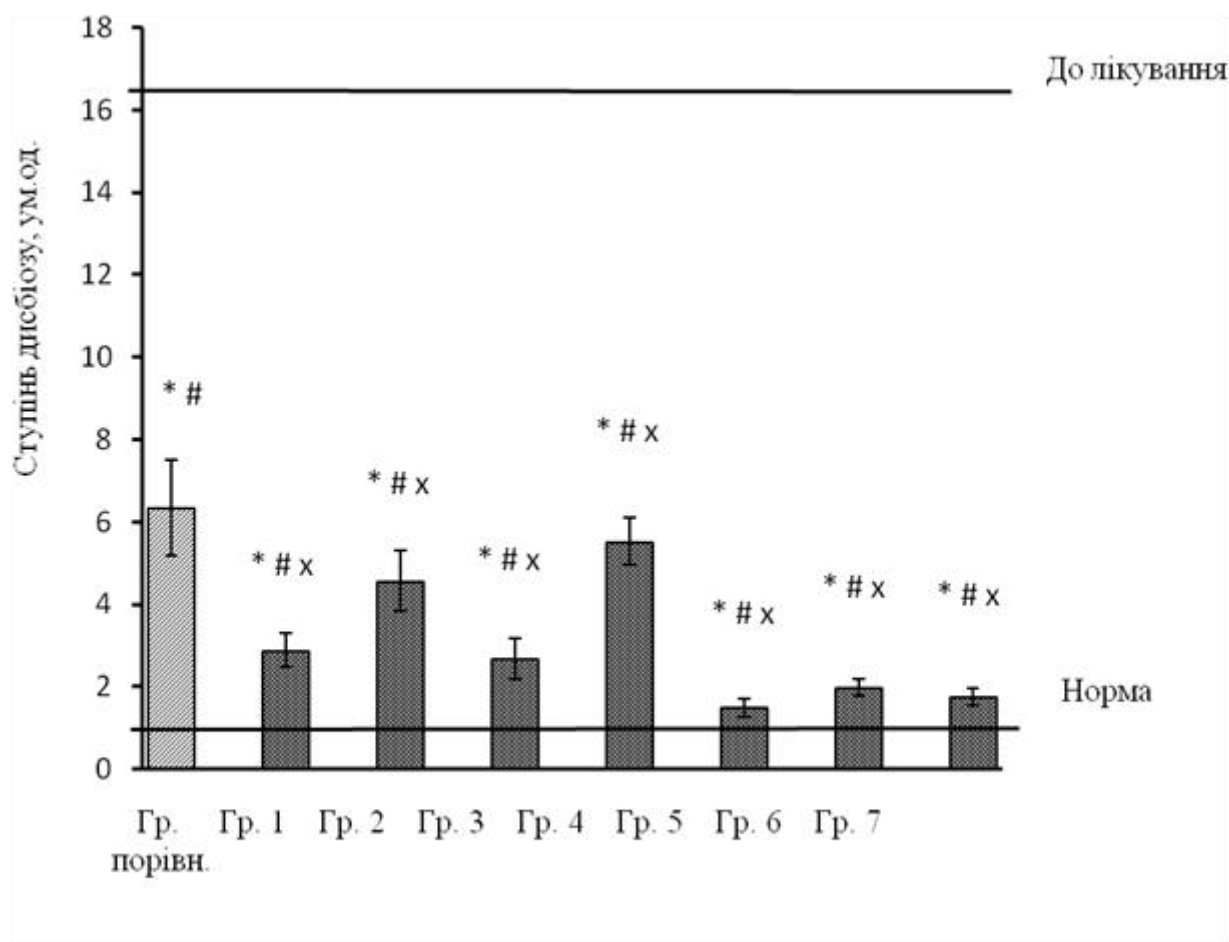


Рис. 6.17. Степінь дисбіозу в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 1 місяць після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i- PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

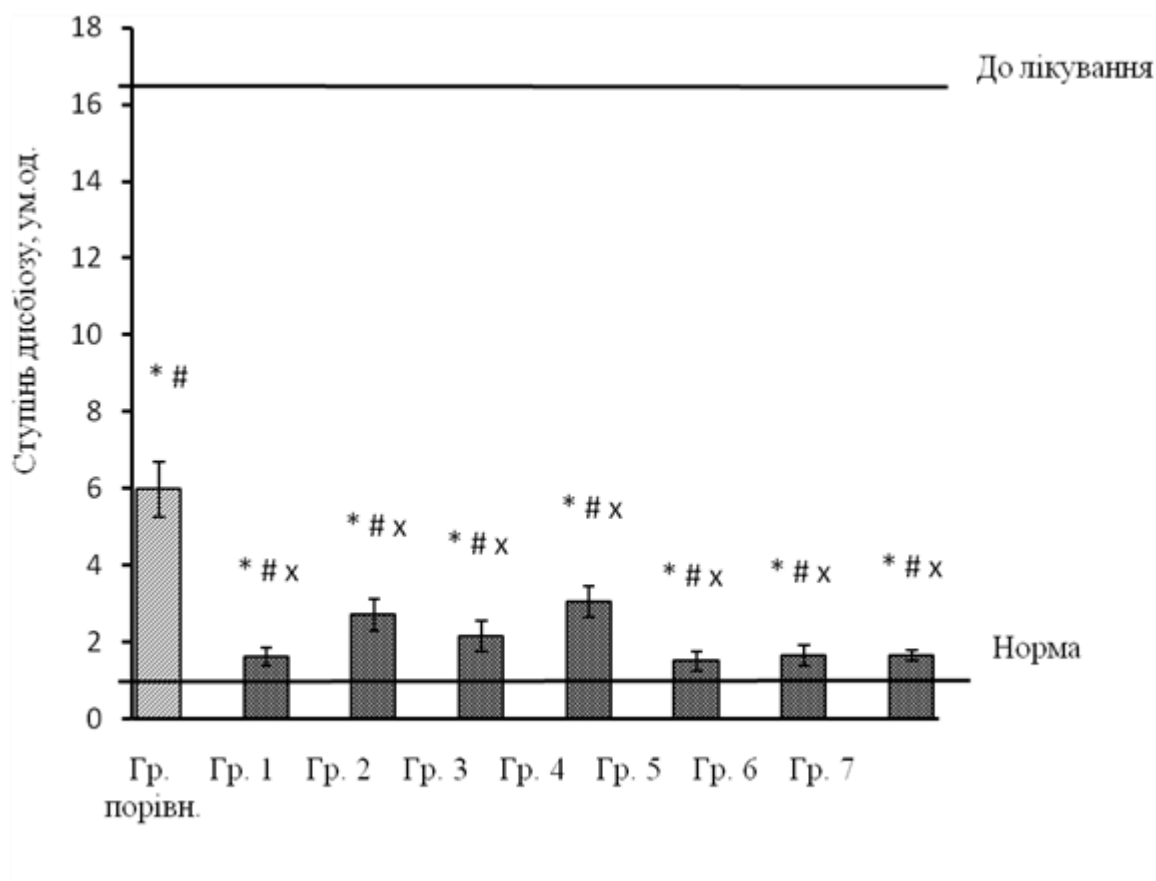


Рис. 6.18. Ступінь дисбіозу в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 6 місяців після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

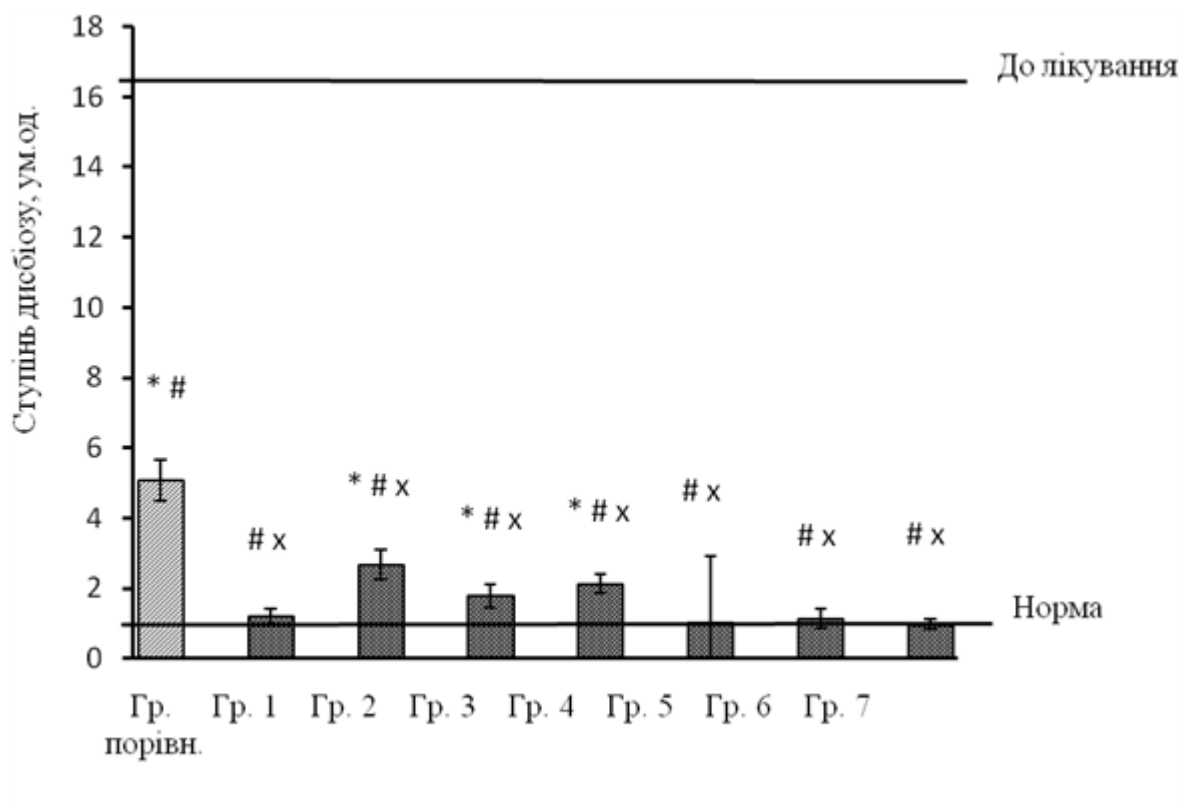


Рис. 6.19. Ступінь дисбіозу в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 1 рік після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

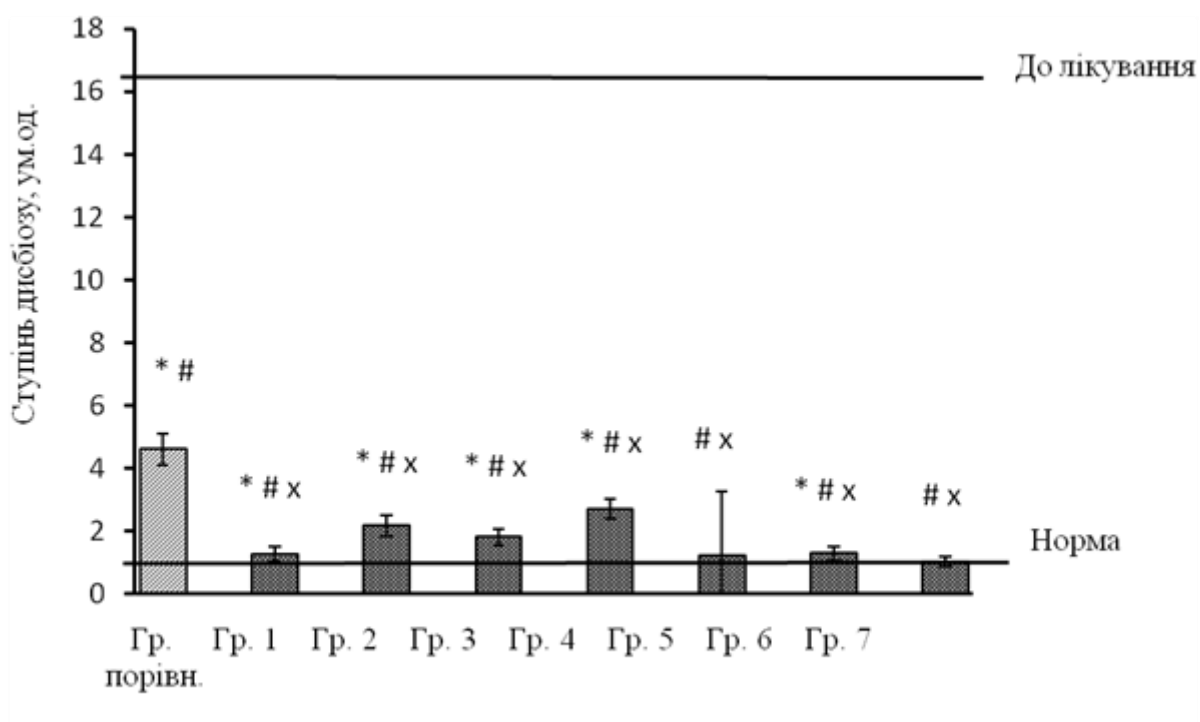


Рис. 6.20. Ступінь дисбіозу в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 2 роки після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК ,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

У пацієнтів до лікування цей показник становив $16,5 \pm 1,45$ порівняно з нормою $1,0 \pm 0,001$. Достовірне зниження даного показника відбулося у всіх групах після лікування. Це говорить про зниження мікробного обсіменіння та

підвищення антимікробного захисту, що є результатом правильно проведеної базової терапії та адекватно підібраних засобів індивідуального догляду за ротовою порожниною. Найбільш наближені результати до норми були отримані в групах АМК через 1 місяць – $1,64 \pm 0,10$, через 6 місяців – $1,60 \pm 0,12$, через 1 рік – $1,12 \pm 0,10$, через 2 роки $1,61 \pm 0,11$. В групі i-PRF + ГК, через 1 місяць – $1,74 \pm 0,11$, через 6 місяців – $1,78 \pm 0,10$, через 1 рік – $1,42 \pm 0,10$, через 2 роки – $1,51 \pm 0,11$.

У віддалені терміни спостереження найбільш достовірно зниження ступеню дисбіозу відбулося у групі з комбінованою терапією плазмо гелем + ГК + i-PRF, через 1 рік показник становив $0,98 \pm 0,07$, через 2 роки $1,09 \pm 0,09$.

Отримані дані дають можливість зробити припущення, що у всіх групах де були отримані високі показники покращення до складу препарату АМК i-PRF входив такий компонент, як неколагеновий білок сполучної тканини – фібронектин. Фібронектин - це глікопротеїн екстрацелюлярного матриксу, який синтезується більшістю клітин сполучної тканини. Фібронектин бере участь в адгезії клітин, контролює їх морфологію і архітектуру поверхні, а також формує фібрили позаклітинного матриксу. Фібронектин пов'язує клітини з компонентами позаклітинного матриксу, зокрема з колагеном і глікозаміногліканами. При загоєнні ран фібронектин утворює шляху для міграції клітин. Рецептор фібронектина - інтегрін, вбудований в клітинну мембрану. Усередині клітини інтегрін взаємодіє з актиновими мікрофіламентами пріємбранного цитоскелету, а зовні з'єднується з фібронектином. У свою чергу фібронектин утворює зв'язки з колагеном і глікозаміногліканів (гепарансульфат), так встановлюється структурна безперервність між цитоскелетом і позаклітинним матриксом. Таким чином, фібронектин бере участь в інтеграції міжклітинної матриксу і в адгезії клітин сполучної тканини.

При комбінованому застосуванні плазмогелю, гіалуронової кислоти і i-PRF отримано потенціювання аутологічного матриксу (плазмогель), міжклітинного матриксу і протизапального ефекту (гіалуронова кислота) і

фібронектину, який контролює архітекtonіку поверхні, адгезію клітин та зв'язує компоненти позаклітинного матриксу.

6.4.1 Визначення динаміки запалення при лікуванні генералізованого пародонтиту препаратами аутоплазми та гіалуронової кислоти. Після проведення комплексу терапевтичних заходів, спрямованих на купірування патологічного процесу (професійної гігієни порожнини рота і навчання хворих раціональної гігієни порожнини рота) активність кислої та лужної фосфатази зменшилась у всіх досліджуваних групах хворих, на всіх термінах дослідження. Але можна відмітити значне зниження показників, як кислої фосфатази (рис. 6.21 - 6.24), так і лужної фосфатази (рис. 6.25-6.28) відбулося у всіх основних групах відносно групи порівняння.

При проведенні аналізу показників запалення в групах хворих, де для лікування застосовували тільки ін'єкційні методики аутоплазми, найбільш виражений результат отримали у групі з використанням лабораторно виготовленого препарату АМК. Даний препарат вже через місяць після проведеного лікування призводив до зниження показників майже в 2 рази відносно групи порівняння. Тривалість терапевтичного ефекту даного препарату була достатньо довготривалою, про це свідчать показники через 1 рік після лікування. Кисла фосфатаза утримувалась на низькому рівні, а от показник лужної фосфатази поступово починав збільшуватись.

Найменш виражений результат на ранніх строках дослідження отримали в групі де застосовували препарат нормоплазми РРР. За результатами через 1 рік можна відмітити зменшення показника кислої фосфатази, але вже через 2 роки знову відмічається збільшення активності ферментів. Можна припустити, що даний процес відбувається опосередковано за рахунок покращення компенсаторних механізмів після проведення комплексу професійної гігієни, згладжування поверхонь коренів та стимуляції препаратом РРР, але так як цей препарат не має високого вмісту тромбоцитарних факторів росту то і

отриманий після лікування ефект тримається менше ніж у групах де для лікування застосовували препарати плазми з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту або проводили комбінацію препаратів ауто плазми з гіалуроновою кислотою.

В групі PRP в динаміці видно зменшення активності ферментів, але у порівнянні з групою АМК значно меншою, максимального піку активності даний препарат набуває приблизно через 1 рік після лікування, але вже через 2 роки знову відмічається зростання показників активності фосфатаз.

Достовірне зниження показників у віддалені строки спостереження можна констатувати у групі i-PRF, через 2 роки активність ферментів відносно групи порівняння знижена майже в 2 рази, а відносно групи АМК майже однакова.

При аналізі груп, в яких з лікувальною метою використовували окрім препаратів аутоплазми препарат гіалуронової кислоти можна відзначити, що найбільш активно на ранніх термінах спостереження зниження активності ферментів було в групі i-PRF з ГК, але на віддалених термінах найбільш виражене зниження активності ферментів отримано в групі з комбінованим лікуванням плазмогелем, ГК та i-PRF.

В групі з комбінованим застосуванням плазмогелю та ГК показник кислої фосфатази має достовірне зниження відносно групи порівняння, а от активність лужної фосфатази не має вірогідних розбіжностей з групою порівняння, не на ранніх термінах спостереження, не на віддалених. Це дає можливість припустити, що сам препарат плазмгель, так як є модифікованою формою аутоплазми і не має високого вмісту факторів росту, виступає скоріше аутологічним наповнювачем пародонтальної кишені під час біодеградації якого відбувається відтворення колагенових волокон пародонтальної зв'язки, а гіалурнова кислота виступає у вигляді матриксу для відновлення кісткової тканини. Але при цьому в даній групі відсутні ін'єкційні методики аутоплазми з високим вмістом факторів росту, що стимулює процес неоангєогенезу. Це

може пояснити недостатність відновлення гемодинаміки, що призводить до менш вираженого протизапального ефекту [324].

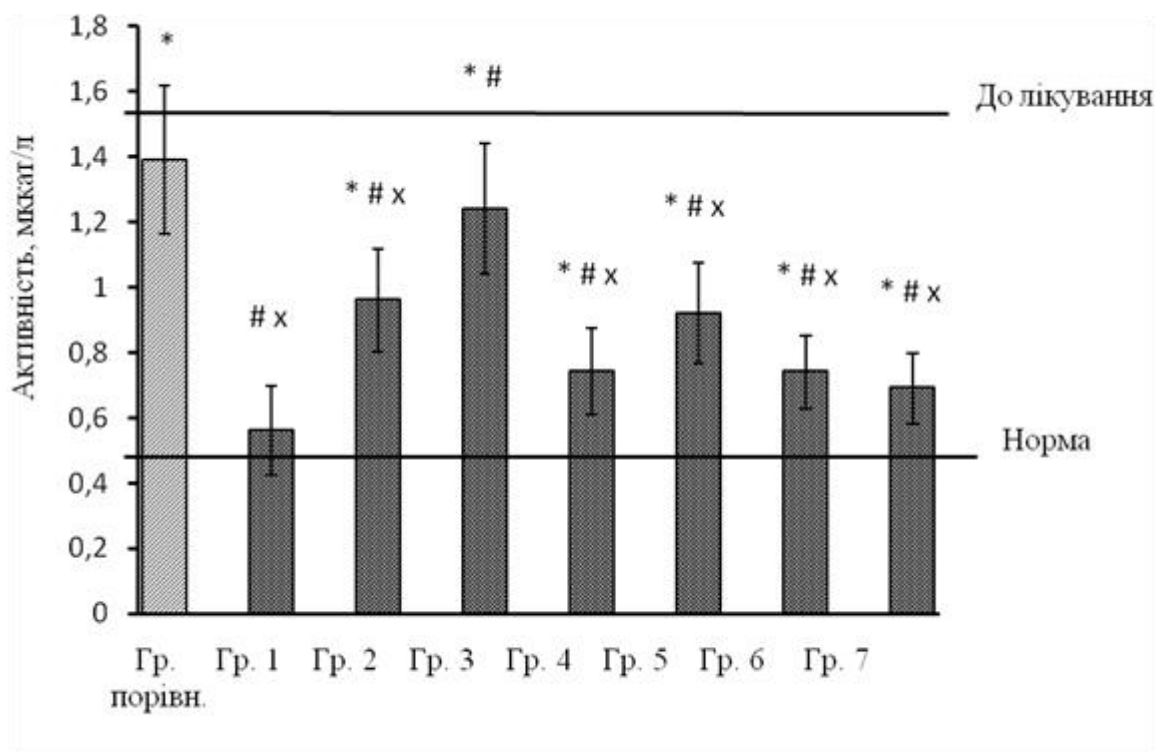


Рис. 6.21. Активність кислої фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 1 місяць після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр. 7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

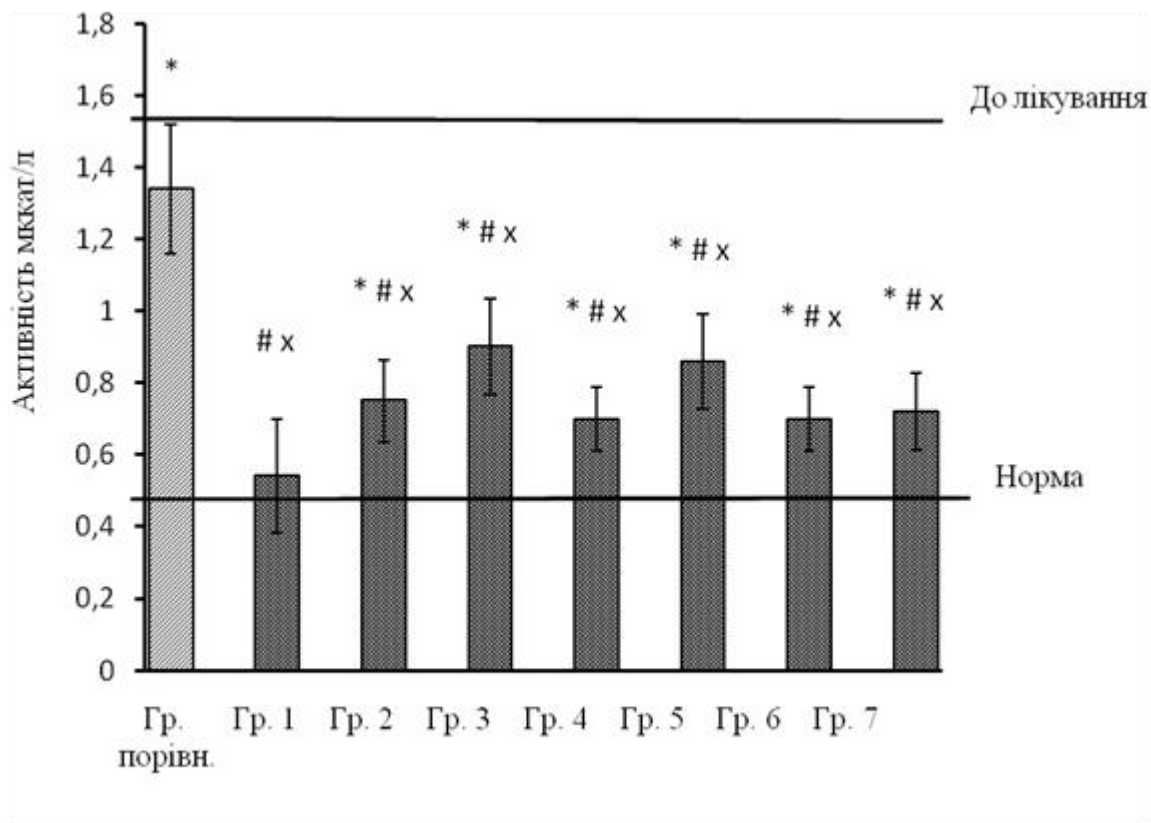


Рис. 6.22. Активність кислої фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 6 місяців після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр. 7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

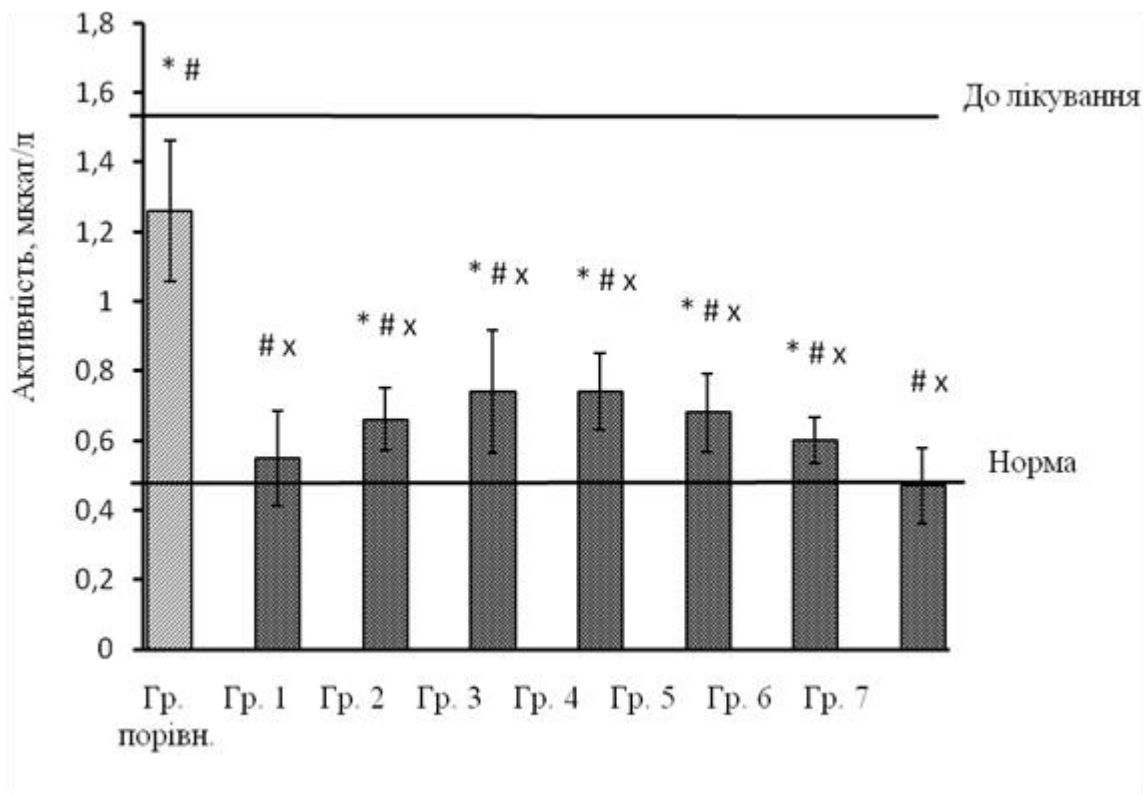


Рис. 6.23. Активність кислої фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 1 рік після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр. 7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

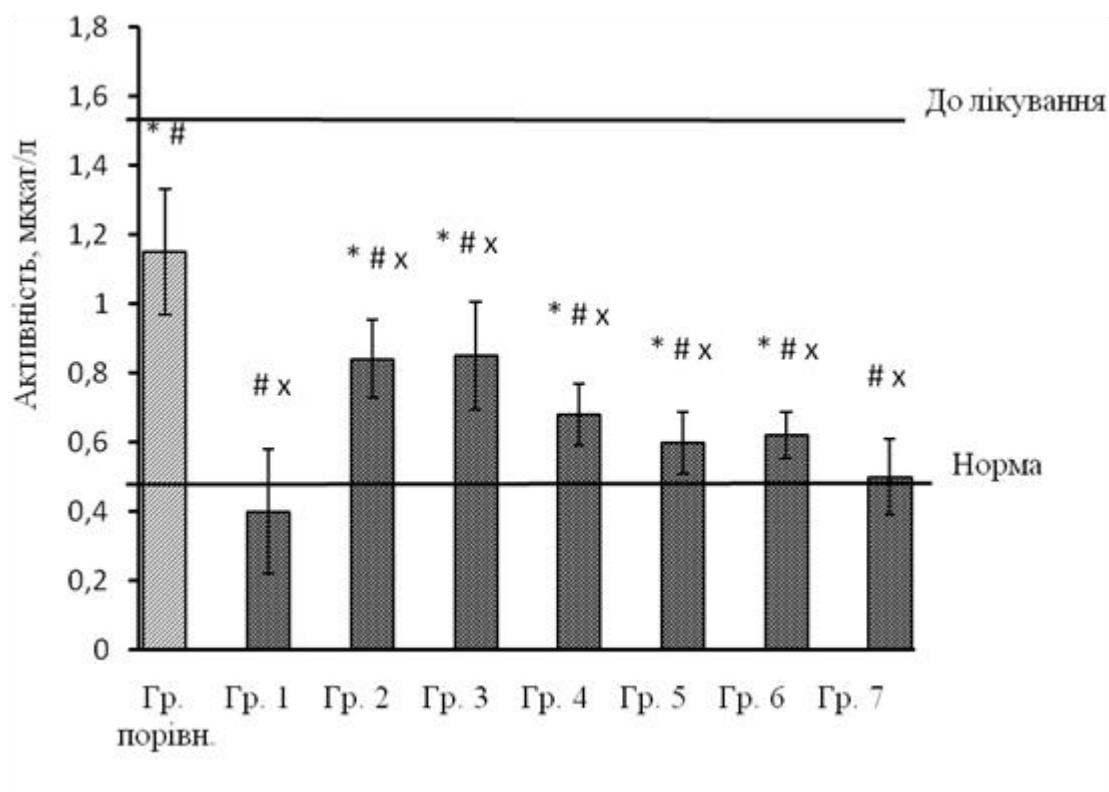


Рис. 6.24. Активність кислої фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 2 роки після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр. 7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

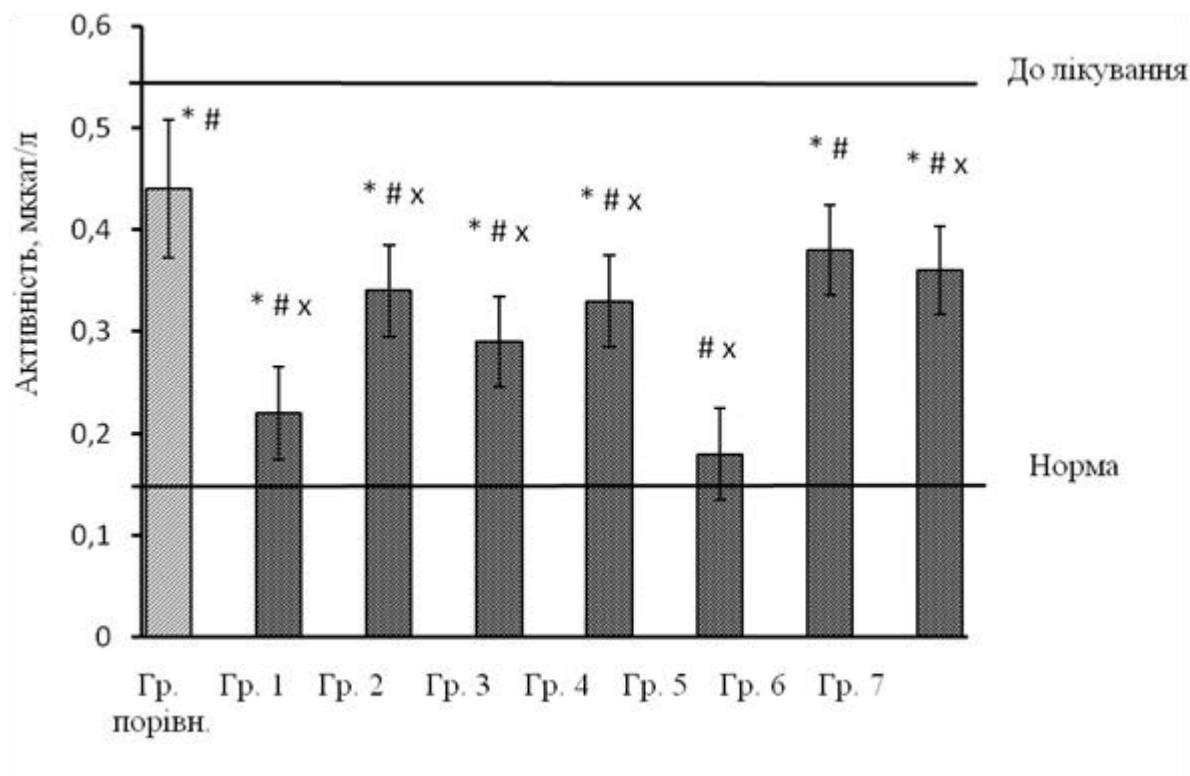


Рис. 6.25. Активність лужної фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 1 місяць після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

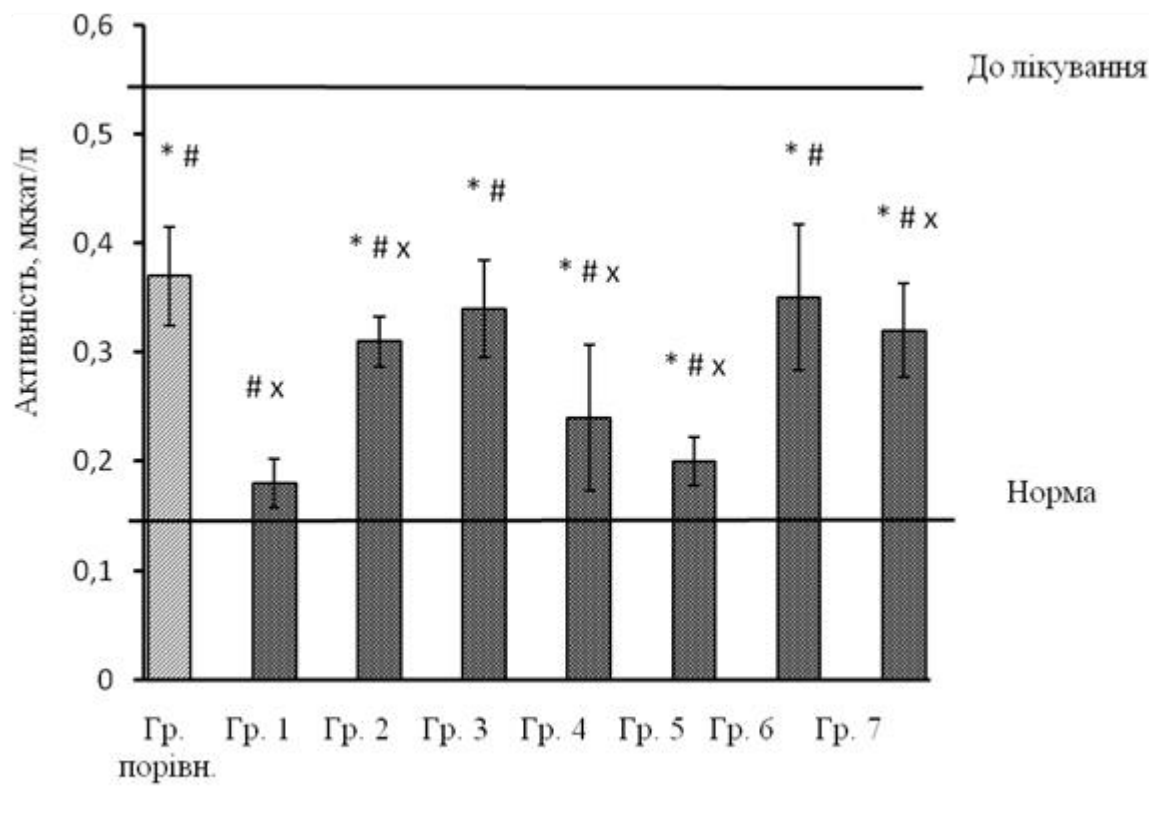


Рис. 6.26. Активність лужної фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 6 місяців після лікування.

П р и м і т к а :

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

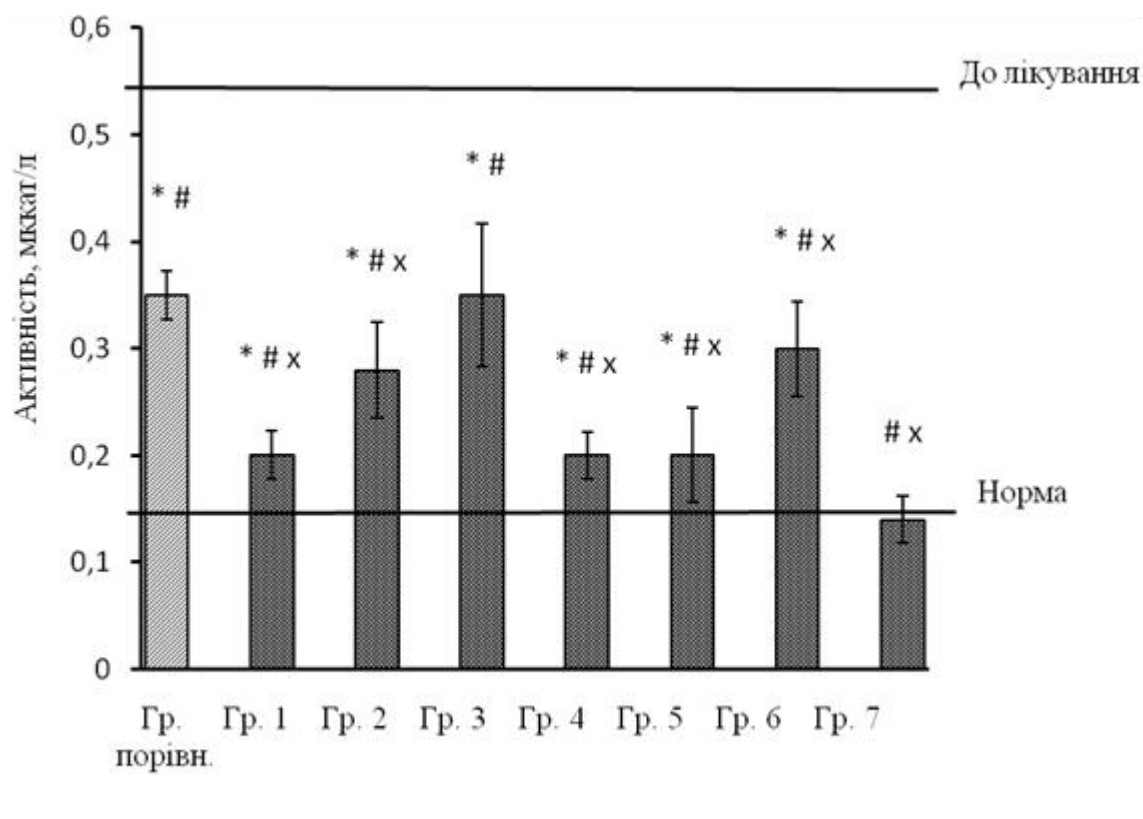


Рис. 6.27. Активність лужної фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 1 рік після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

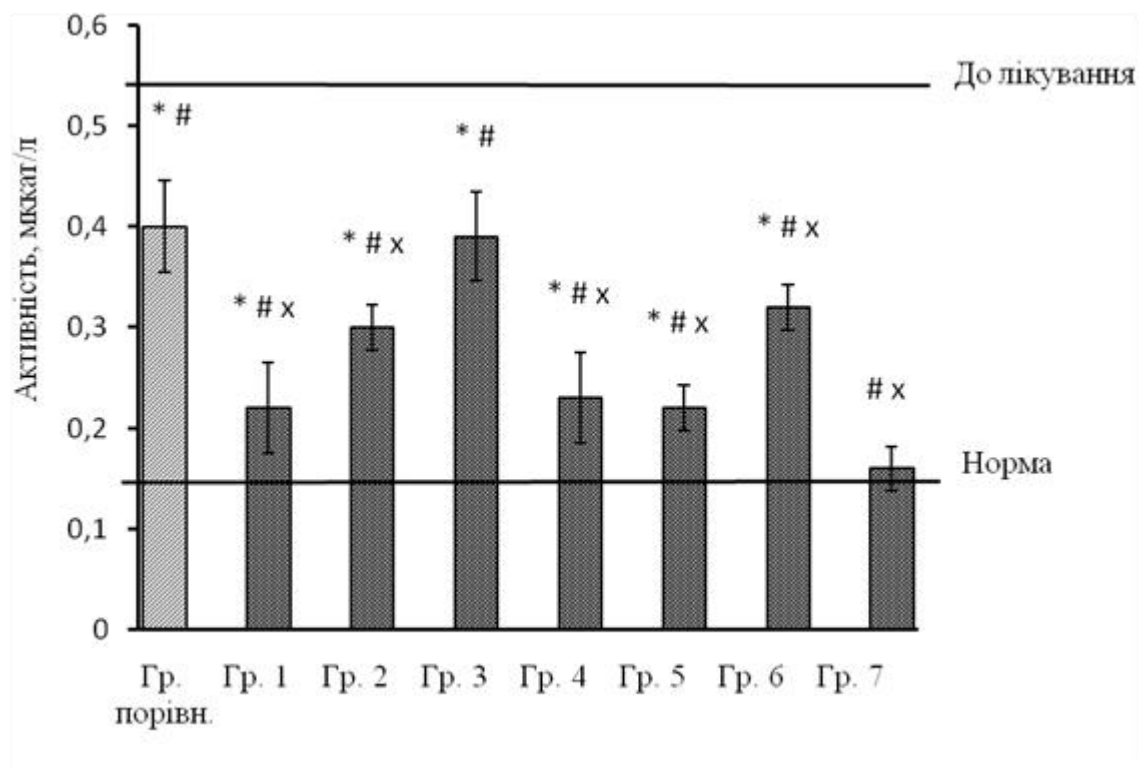


Рис. 6.28. Активність лужної фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості через 2 роки після лікування.

Примітка:

Гр. порівн. – група порівняння,

Гр.1 – АМК,

Гр.2 – PRP,

Гр.3 – PPP,

Гр.4 – i-PRF,

Гр.5 – i-PRF + ГК,

Гр.6 – Плазмгель + ГК,

Гр.7 – Плазмгель + ГК + i-PRF.

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

6.5 Оцінка лікування хірургічними регенеративними методиками за біохімічними показниками в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом

Генералізований пародонтит – це запально-дистрофічний процес в тканинах пародонту, що виявляється не тільки за суб'єктивними, візуальними ознаками та змінами дентальних індексів, він також призводить до змін рівня особливих маркерів запалення, серед яких найбільш актуальними є вміст МДА, активність еластази, каталази, уреази, лізоциму та вміст гіалуронової кислоти.

На рис. 6.29 представлено результати вмісту МДА після хірургічного лікування в різні терміни спостереження.

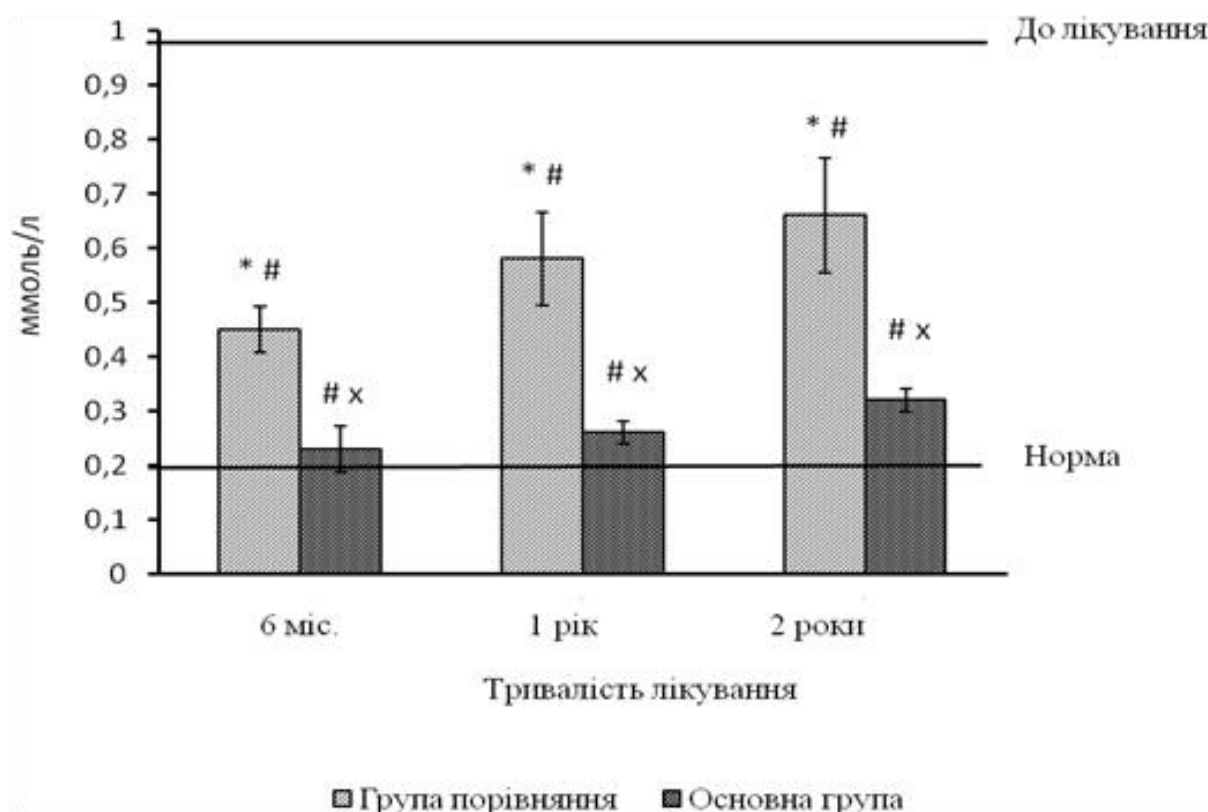


Рис. 6.29. Вміст МДА в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

- * – вірогідна розбіжність від показника норми,
- # – вірогідна розбіжність від показника до лікування,
- x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

Так до лікування показник становив $0,98 \pm 0,06$ ммоль/л у порівнянні з нормою $0,20 \pm 0,02$ ммоль/л. Через 6 місяців в групі порівняння показник дорівнював $0,45 \pm 0,02$ ммоль/л, у основній групі – $0,23 \pm 0,02$ ммоль/л. Через 1 рік після лікування, в групі порівняння – $0,58 \pm 0,04$ ммоль/л, у основній групі – $0,26 \pm 0,01$ ммоль/л. У віддалені терміни спостереження, через 2 роки показник у групі порівняння – $0,66 \pm 0,05$ ммоль/л, в основній групі – $0,32 \pm 0,01$ ммоль/л. Ці показники свідчать про зниження вмісту МДА в основній групі в 2 рази менше ніж у групі порівняння, та збереження більш довготривалого ефекту в основній групі порівняно з групою порівняння.

На рис. 6.30 представлені результати визначення активності еластази в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості. У пацієнтів до лікування активність складала $3,55 \pm 0,18$ мккат/л при нормі $0,65 \pm 0,03$ мккат/л. В групі порівняння через 6 місяців показник був нижче в 2 рази від показника до лікування і складав $1,65 \pm 0,09$ мккат/л, в основній групі – $0,65 \pm 0,04$ мккат/л, що майже дорівнює показнику норми. Через рік після лікування в групі порівняння – $1,86 \pm 0,10$ мккат/л, в основній групі – $0,72 \pm 0,05$ мккат/л. Через 2 роки в групі порівняння – $2,35 \pm 0,16$ мккат/л, в основній групі – $0,63 \pm 0,04$ мккат/л. Таким чином, в динаміці видно, як в основній групі показник активності еластази лишається незмінним через 2 роки, а в групі порівняння показник поступово повертається до вихідних показників до лікування.

Результати визначення активності каталази представлена в таблиці 6.17, показник до лікування становить – $0,07 \pm 0,001$ мкат/л, норма становить – $0,30 \pm 0,02$ мкат/л. В групі порівняння через 6 місяців після лікування показник становив – $0,15 \pm 0,01$ мкат/л, в основній групі – $0,28 \pm 0,02$ мкат/л. Через 1 рік в групі порівняння – $0,18 \pm 0,01$ мкат/л, через 2 роки – $0,30 \pm 0,01$ мкат/л, що дорівнює показнику норми. Через 2 роки показник в групі порівняння – $0,16 \pm 0,01$ мкат/л, в основній групі – $0,25 \pm 0,02$ мкат/л. Найбільш високий показник активності ферменту зафіксовано через 1 рік після лікування і в групі

порівняння і в основній групі, але в групі порівняння відносно основної групи показник був в 2 рази нижче.

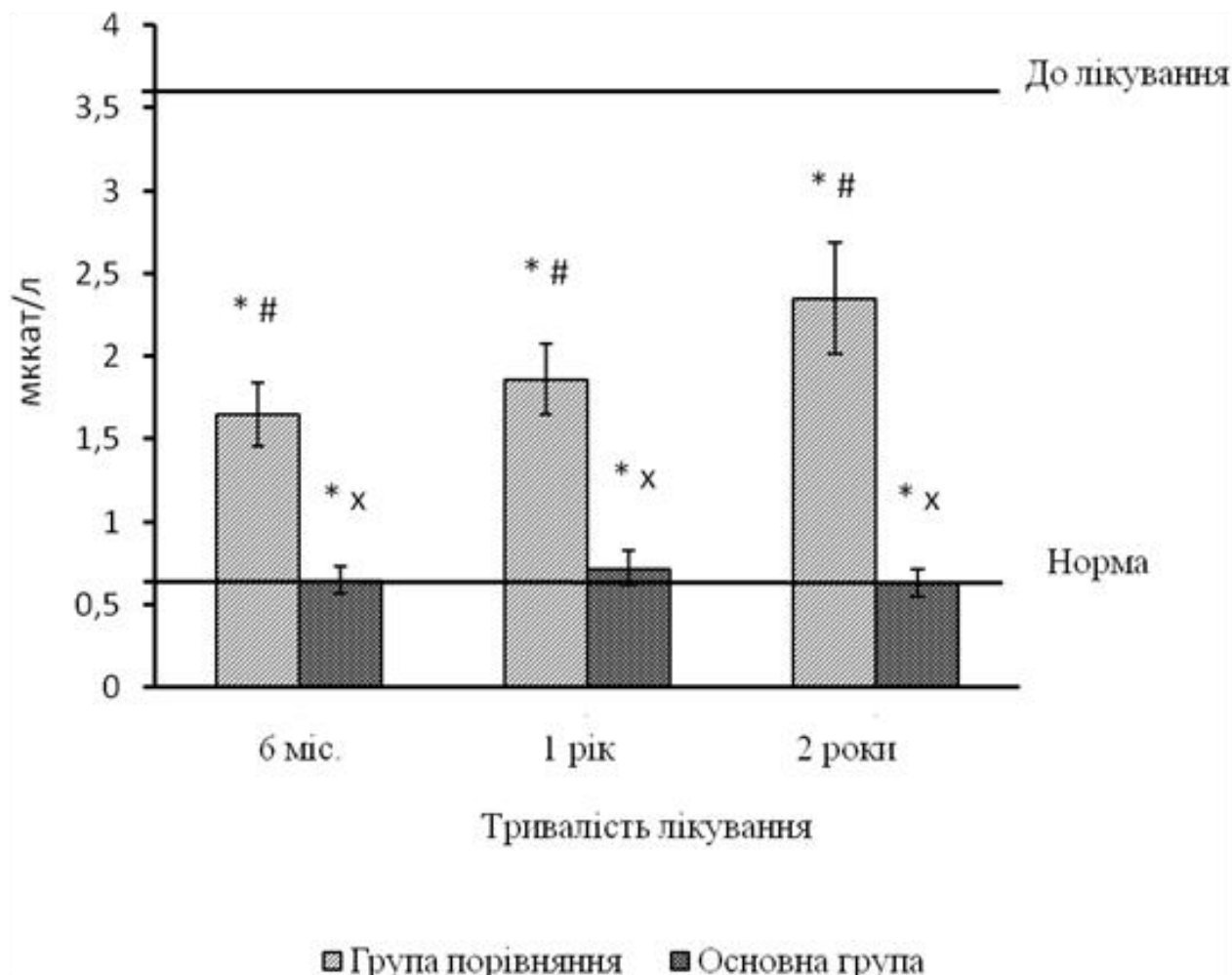


Рис. 6.30. Активність еластази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

- * – вірогідна розбіжність від показника норми,
- # – вірогідна розбіжність від показника до лікування,
- x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

Таблиця 6.17

**Оцінка активності каталази в динаміці після хірургічного лікування,
мкат/л**

Терміни Групи	Норма $0,30 \pm 0,02$ (n=10)			
	До лікування, n=35	Через 6 місяців	Через 1 рік	Через 2 роки
Порівняння Преф. гель+ кістка + мембрана колагенова n=17	$0,07 \pm 0,001$ $p < 0,001$	$0,15 \pm 0,01$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ n=17	$0,18 \pm 0,01$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ n=17	$0,16 \pm 0,01$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ n=15
Основна Преф. гель+ кістка + ГК +PRP + мембрана колагенова n=18		$0,28 \pm 0,02$ $p > 0,5$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ n=18	$0,30 \pm 0,01$ $p > 0,9$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ n=17	$0,25 \pm 0,02$ $p > 0,5$ $p_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ n=15

Примітка: р- вірогідність відмінностей від норми; p_1 - вірогідність відмінностей від групи до лікування; p_2 – вірогідність відмінностей від групи порівняння.

Вміст гіалуронової кислоти у ротовій рідині представлено на рис. 6.31.

В людському організмі при народженні є велика кількість гіалуронової кислоти, але з віком її рівень значно зменшується. Приблизно з 22 років вироблення кислоти в організмі людини починає сповільнюватися, але до 30 років її кількості ще цілком достатньо для задоволення всіх потреб організму. Далі організм людини починає відчувати брак цієї речовини, а після досягнення вікової позначки 40 років процес зменшення гіалуронової кислоти в організмі прискорюється в геометричній прогресії. До 50-річного віку кількість гіалуронової кислоти в організмі людини знижується вдвічі [325].

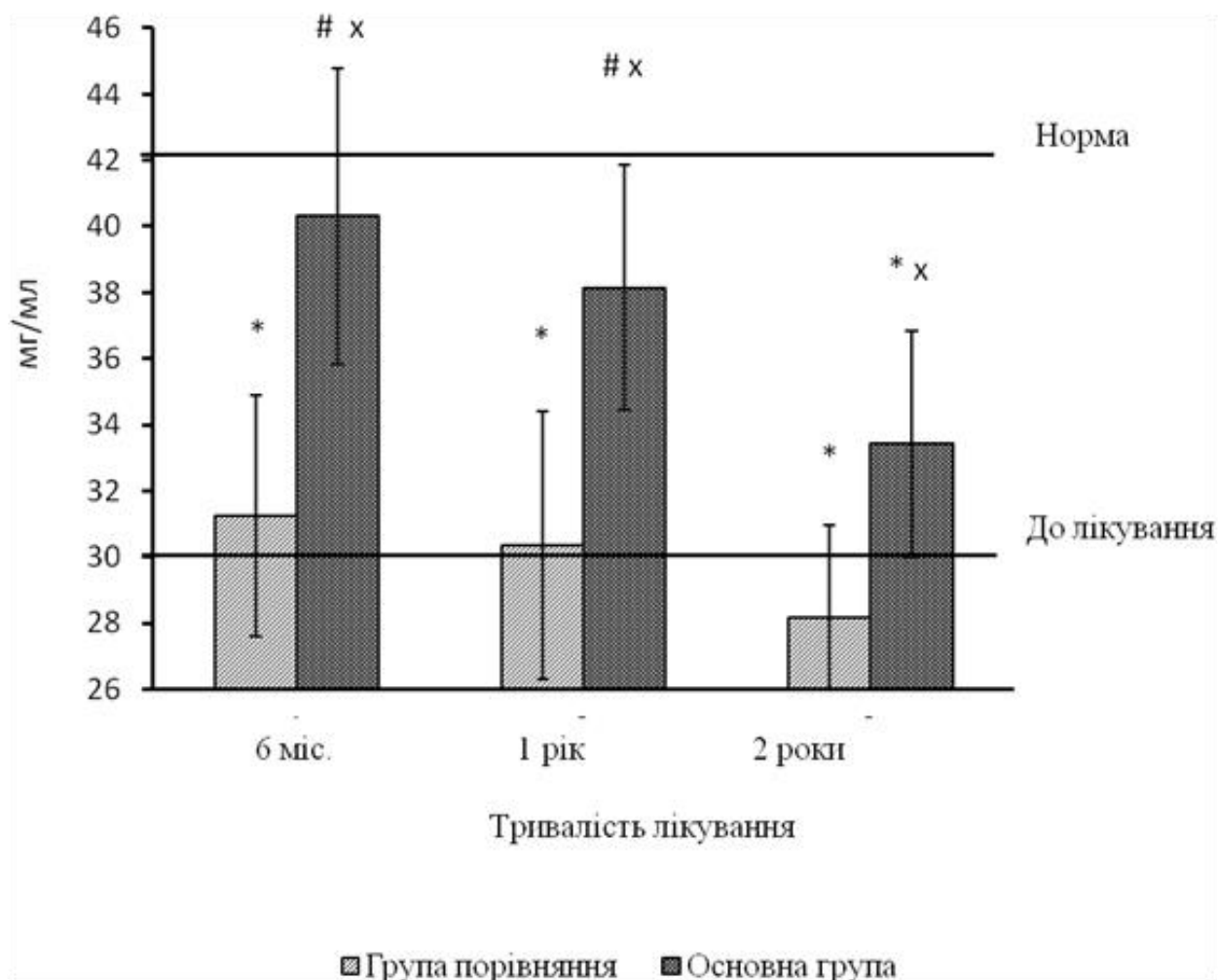


Рис. 6.31. Вміст гіалуронової кислоти у ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

- * – вірогідна розбіжність від показника норми,
- # – вірогідна розбіжність від показника до лікування,
- x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

Після введення в ділянці оперативного втручання запускаються природні процеси відновлення. Як тільки молекула гіалуронової кислоти потрапляє в зону пошкодження, вона миттєво починає притягувати воду, захищає від

вільних радикалів, запускає процес вироблення організмом власної гіалуронової кислоти. Таким чином гіалуронова кислота стимулює поділ і переміщення клітин. В тканинах пародонту утворюються нові клітини, відновлюється пошкоджена структура колагенових волокон.

В групі до лікування вона становила $30,23 \pm 1,41$ мг/л, при нормі – $42,24 \pm 1,24$ мг/л. В групі порівняння через 6 місяців показник дорівнював $31,24 \pm 1,72$ мг/л, в основній групі – $40,31 \pm 2,12$ мг/л. Через 1 рік в групі порівняння – $30,35 \pm 1,91$ мг/л, в основній групі – $38,14 \pm 0,25$ мг/л. Через 2 роки в групі порівняння – $28,15 \pm 1,32$ мг/л, в основній групі – $33,42 \pm 1,61$ мг/л.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що в дані віковій групі (від 35 до 55 років) дійсно відбувається зниження показнику гіалуронової кислоти в організмі і це відображається і в ротовій рідині. При хірургічному лікуванні з використанням гелю гіалуронової кислоти вже через 6 місяців показник майже дорівнює нормі. Але поступово, це видно в динаміці показника через 1 і 2 роки, що її вміст знижується, що говорить про необхідність підтримуючої терапії з препаратом гіалуронової кислоти або плазмотерапії для підтримки її рівня в тканинах пародонту, для збереження колагенових волокон, а отже і епітеліального прикріплення.

Для наглядної оцінки стану антиоксидантно-прооксидантної системи тканин пародонту використовували індекс АПІ (рис. 6.32.), який може використовуватись для оцінки ефективності лікування. До лікування рівень індексу АПІ становив $0,71 \pm 0,05$ ум.од. при нормі – $15,0 \pm 1,1$ ум.од. Після лікування через 6 місяців в групі порівняння – $3,33 \pm 0,20$ ум.од., у основній групі – $12,17 \pm 0,57$ ум.од. Через 1 рік після лікування в групі порівняння – $3,10 \pm 0,17$ ум.од., в основній групі – $11,53 \pm 0,84$ ум.од., через 2 роки в групі порівняння – $2,42 \pm 0,21$ ум.од., в основній групі $7,81 \pm 0,50$ ум.од.

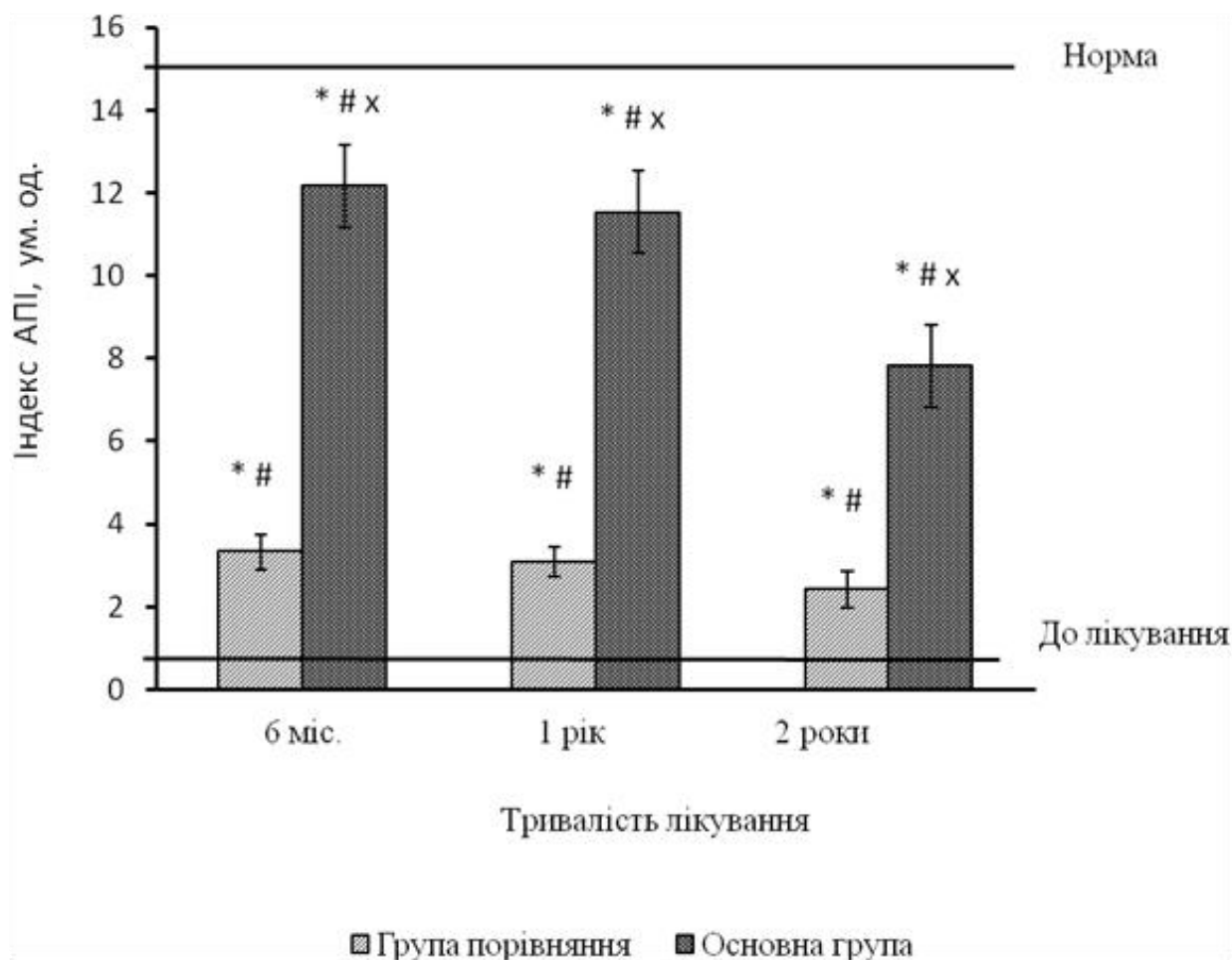


Рис. 6.32. Індекс АПІ у ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

- * – вірогідна розбіжність від показника норми,
- # – вірогідна розбіжність від показника до лікування,
- x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

По результатам дослідження можна сказати, що стан антиоксидантно-прооксидантної системи тканин пародонту до лікування має значний зсув в сторону збільшення прооксидантних факторів. Після проведеного лікування стан системі покращився, але в жодній з груп не дійшов до показника норми, так як пацієнти з ХГП II-III ступеня важкості мають довготривалий перебіг захворювання і значне виснаження антиоксидантної системи. Але все ж таки в групі в факторами росту та гіалуроновою кислотою показник вірогідно підвищився, що говорить про зменшення активності оксигеназ і збільшення

активності каталази. Це дозволяє рекомендувати запропоновану методику для покращення індукції захисних антиоксидантних систем і резистентності тканин пародонту від пошкоджуючої дії вільних радикалів.

Результати визначення у ротовій рідині активності уреазі, лізоциму та ступіню дисбіозу для оцінки стану неспецифічного антимікробного захисту представлені на рис. 6.33- 6.35.

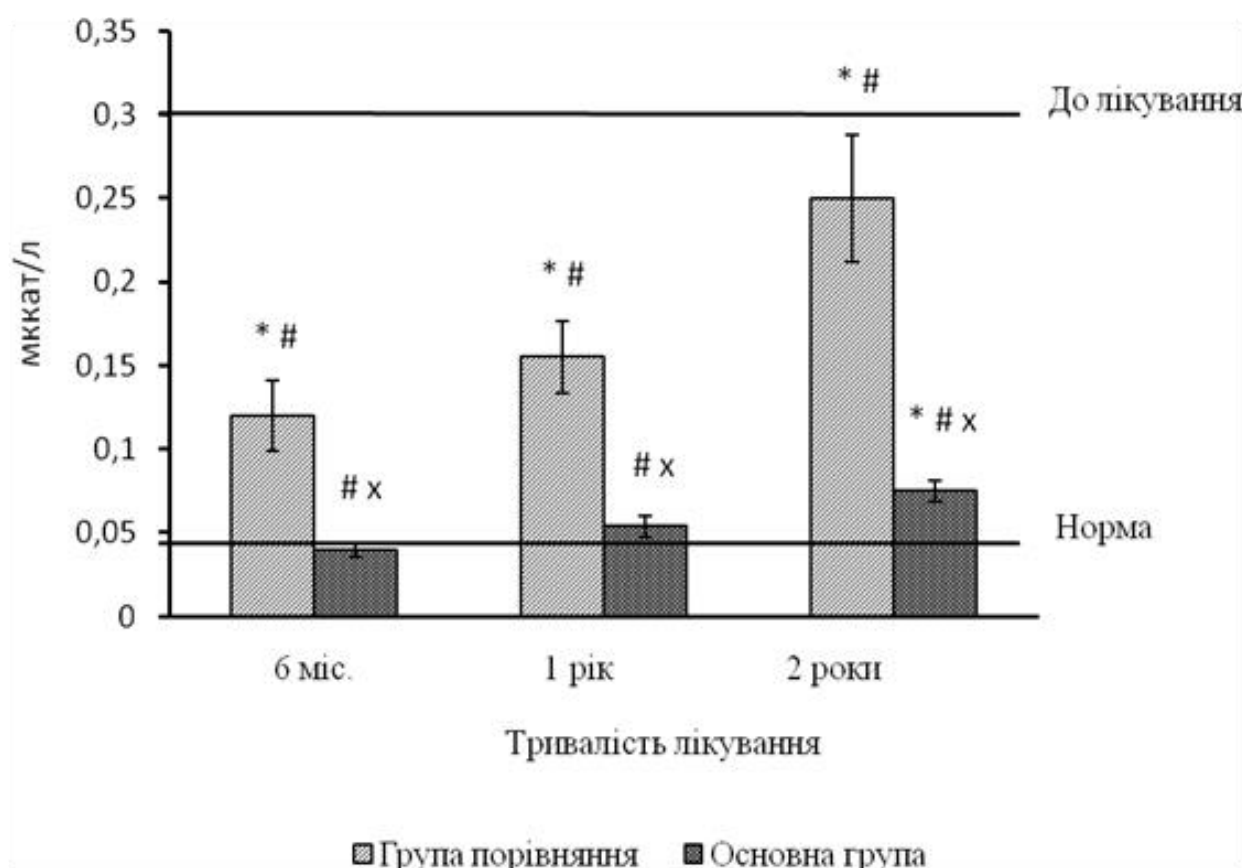


Рис. 6.33. Активність уреазі у ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

- * – вірогідна розбіжність від показника норми,
- # – вірогідна розбіжність від показника до лікування,
- x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

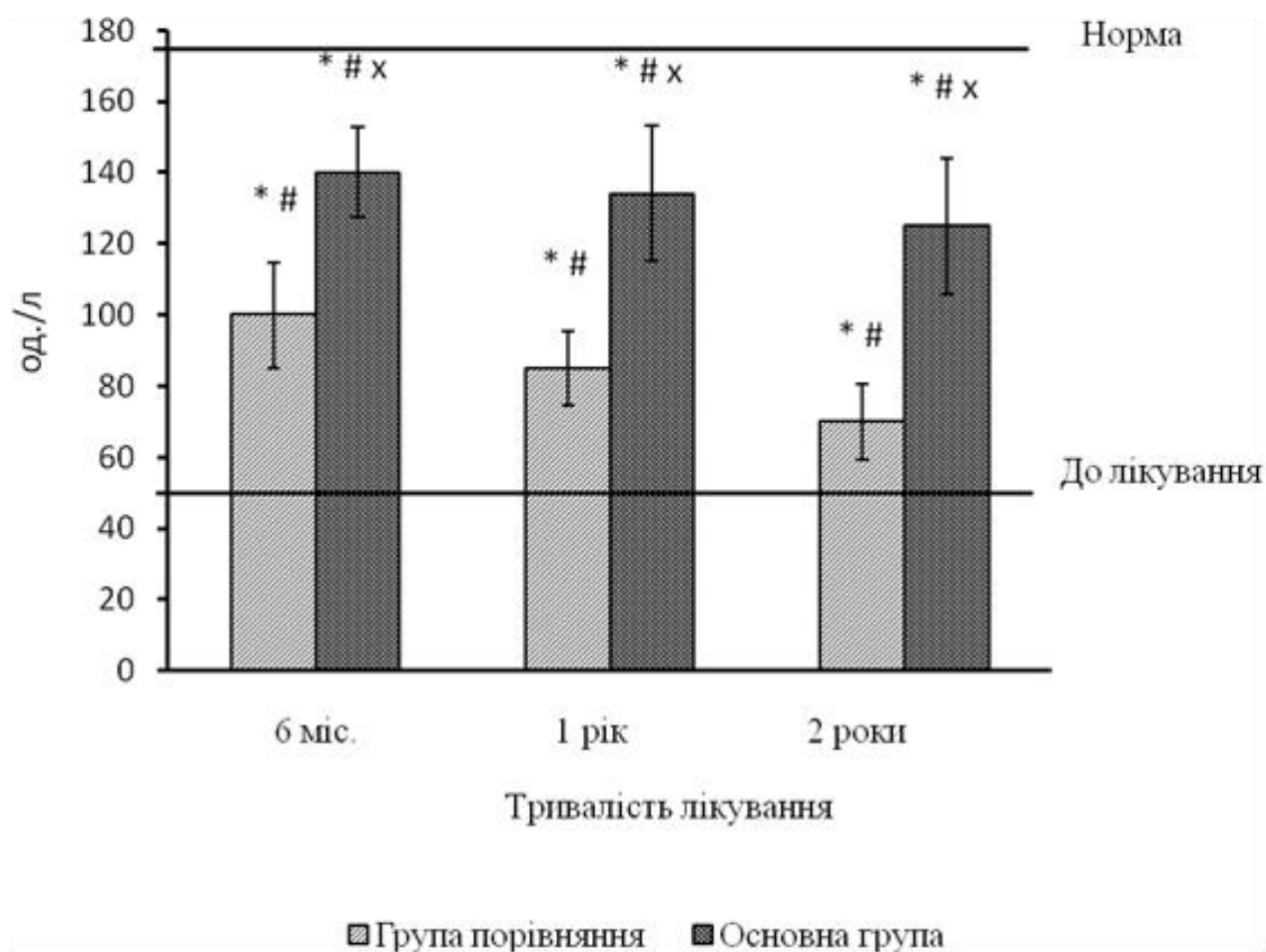


Рис. 6.34. Активність лізоциму в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

Як видно з отриманих результатів активність уреазы до лікування в пацієнтів с ХГП II-III ступеня важкості складала $0,300 \pm 0,010$ мккат/л, при нормі – $0,045 \pm 0,003$ мккат/л. Через 6 місяців після проведенного лікування показник в групі порівняння – $0,120 \pm 0,010$ мккат/л, в основній групі – $0,040 \pm 0,002$ мккат/л, що дозволяє зробити висновок про зменшення мікробної складової після проведенного консервативного етапу лікування, мотивації

пацієнта до гігієни ротової порожнини і хірургічного втручання. Через 1 рік після лікування в групі порівняння – $0,155 \pm 0,010$ мккат/л, в основній групі – $0,054 \pm 0,003$ мккат/л. Через 2 роки в групі порівняння показник знову підвищився до $0,250 \pm 0,018$ мккат/л, а в основній групі склав $0,075 \pm 0,003$ мккат/л.

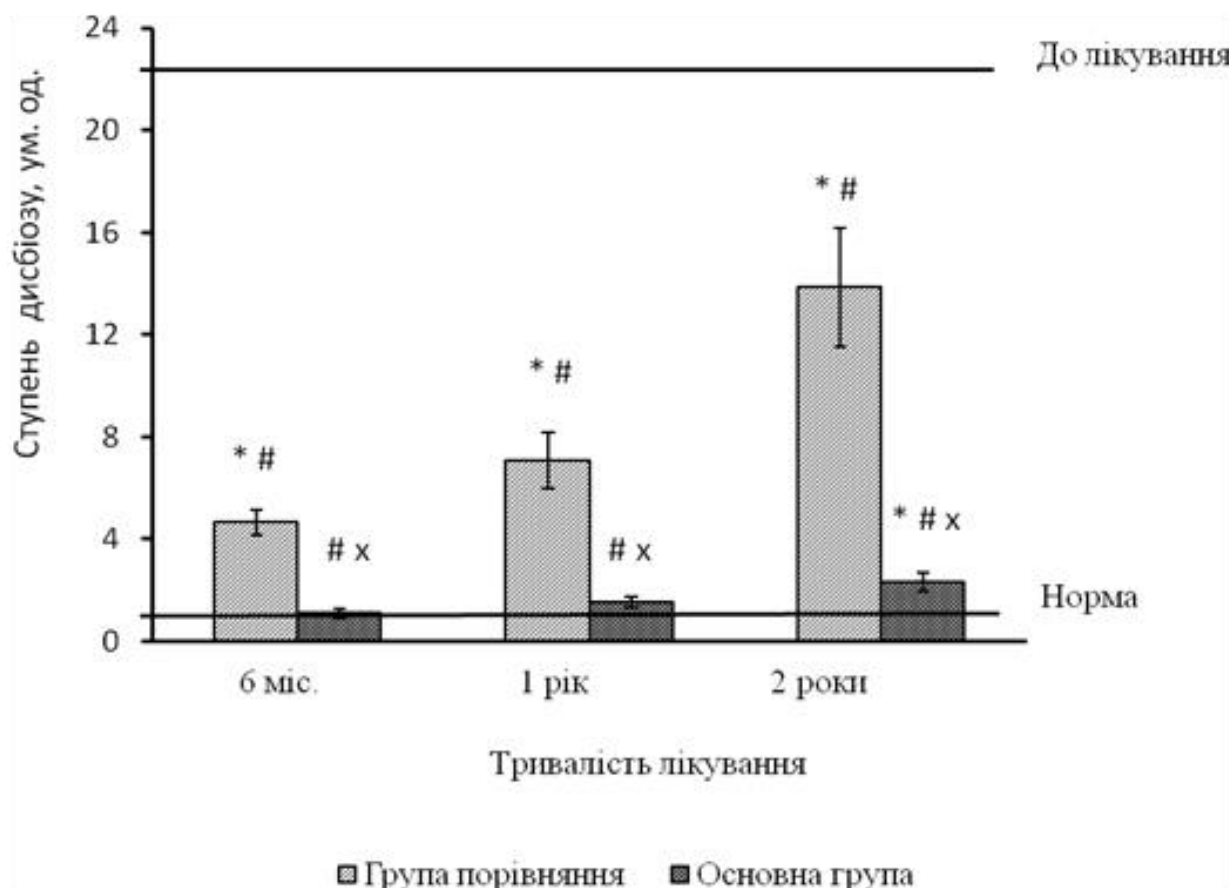


Рис. 6.35. Ступень дисбіозу в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

- * – вірогідна розбіжність від показника норми,
- # – вірогідна розбіжність від показника до лікування,
- x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

Активність лізоциму до лікування складала 50 ± 2 од/л при нормі 175 ± 9 од/л. Після лікування у всіх групах відбулося підвищення активності

лізоциму. Так через 6 місяців у групі порівняння – 100 ± 7 од/л, в основній групі – 140 ± 6 од/л. Через 1 рік в групі порівняння – 85 ± 5 од/л, в основній групі 134 ± 9 од/л. Через 2 роки в групі порівняння показник знизився до 70 ± 5 од/л, а в основній групі лишався на достатньо високому рівні 125 ± 9 од/л.

Ступінь дисбіозу до проведеного лікування становив $23,36 \pm 1,95$ умн.од., коли норма складає $1,0 \pm 0,10$ усл.од. Через півроку після лікування показник був достовірно знижений в групі порівняння – $4,65 \pm 0,24$ умн.од., в основній групі – $1,10 \pm 0,09$ умн.од, що говорить про покращення неспецифічного антимікробного захисту тканин пародонту. Через 1 рік після лікування в групі порівняння – $7,09 \pm 0,52$ умн.од., в основній групі – $1,56 \pm 0,10$ умн.од. Через 2 роки в групі порівняння – $13,85 \pm 1,10$ умн.од., в основній групі – $2,32 \pm 0,18$ умн.од.

6.5.1 Вміст лужної та кислої фосфатаз в ротовій рідині у хворих на генералізований пародонтит після лікування.

Показниками інтенсивності запального процесу є активність лужної (рис. 6.36) та кислої фосфатаз (рис. 6.37).

Отримані при дослідженні дані активності лужної фосфатази до лікування - $0,60 \pm 0,03$ мккат/л, показник в нормі – $0,15 \pm 0,01$ мккат/л. Через 6 місяців після лікування в групі порівняння – $0,32 \pm 0,02$ мккат/л, в основній групі – $0,24 \pm 0,01$ мккат/л. Через 1 рік в основній групі показник становив $0,20 \pm 0,01$ мккат/л, що у 2 рази нижче ніж у групі порівняння – $0,40 \pm 0,02$ мккат/л. У віддалені терміни спостереження в групі порівняння – $0,48 \pm 0,02$ мккат/л, в основній групі – $0,25 \pm 0,01$ мккат/л.

Активність кислої фосфатази до лікування так само мала високі значення $1,56 \pm 0,10$ мккат/л, при нормі – $0,48 \pm 0,02$ мккат/л. Через 6 місяців після хірургічного втручання в групі порівняння показник становив $0,92 \pm 0,05$ мккат/л, в основній групі – $0,78 \pm 0,04$ мккат/л. Через рік після лікування в групі порівняння – $1,0 \pm 0,07$ мккат/л, в основній групі – $0,65 \pm$

0,04 мккат/л. Через 2 роки в групі порівняння – $1,12 \pm 0,08$ мккат/л, в основній групі – $0,70 \pm 0,05$ мккат/л.

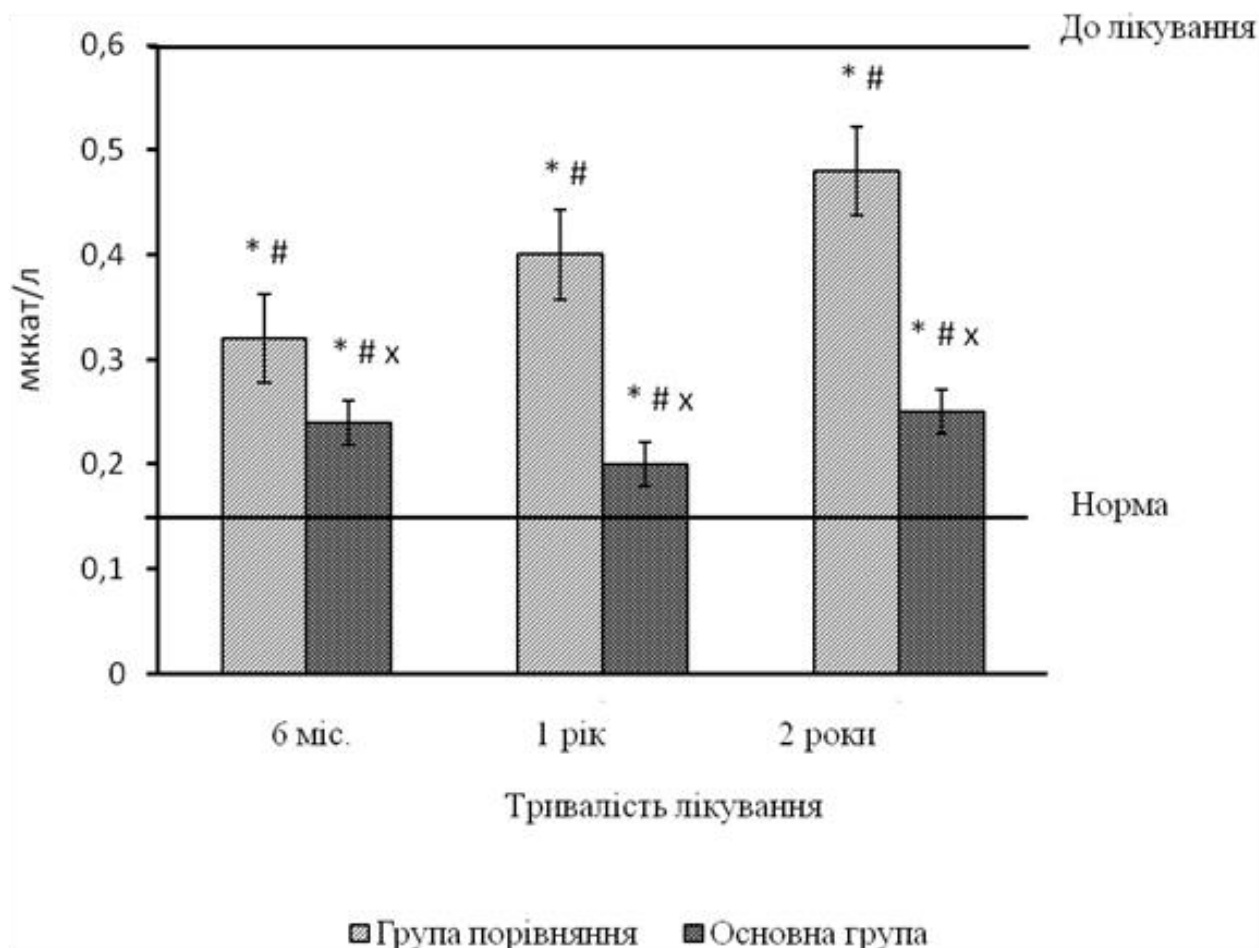


Рис. 6.36. Активність лужної фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

* – вірогідна розбіжність від показника норми,

– вірогідна розбіжність від показника до лікування,

x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

Найбільш виражений ефект проведеного хірургічного втручання в основній групі можна спостерігати через 1 рік після проведеного лікування. У

віддалених термінах спостереження показники збільшуються відносно активності через 1 рік.

Показники активності ферментів у групі порівняння відносно терміну спостереження 6 місяців та 2 роки поступово збільшуються, що говорить про можливість прогресування запалення в пародонтальних тканинах навіть після проведення хірургічного втручання націленого на збереження зубів і зменшення втрати епітеліального прикріплення.

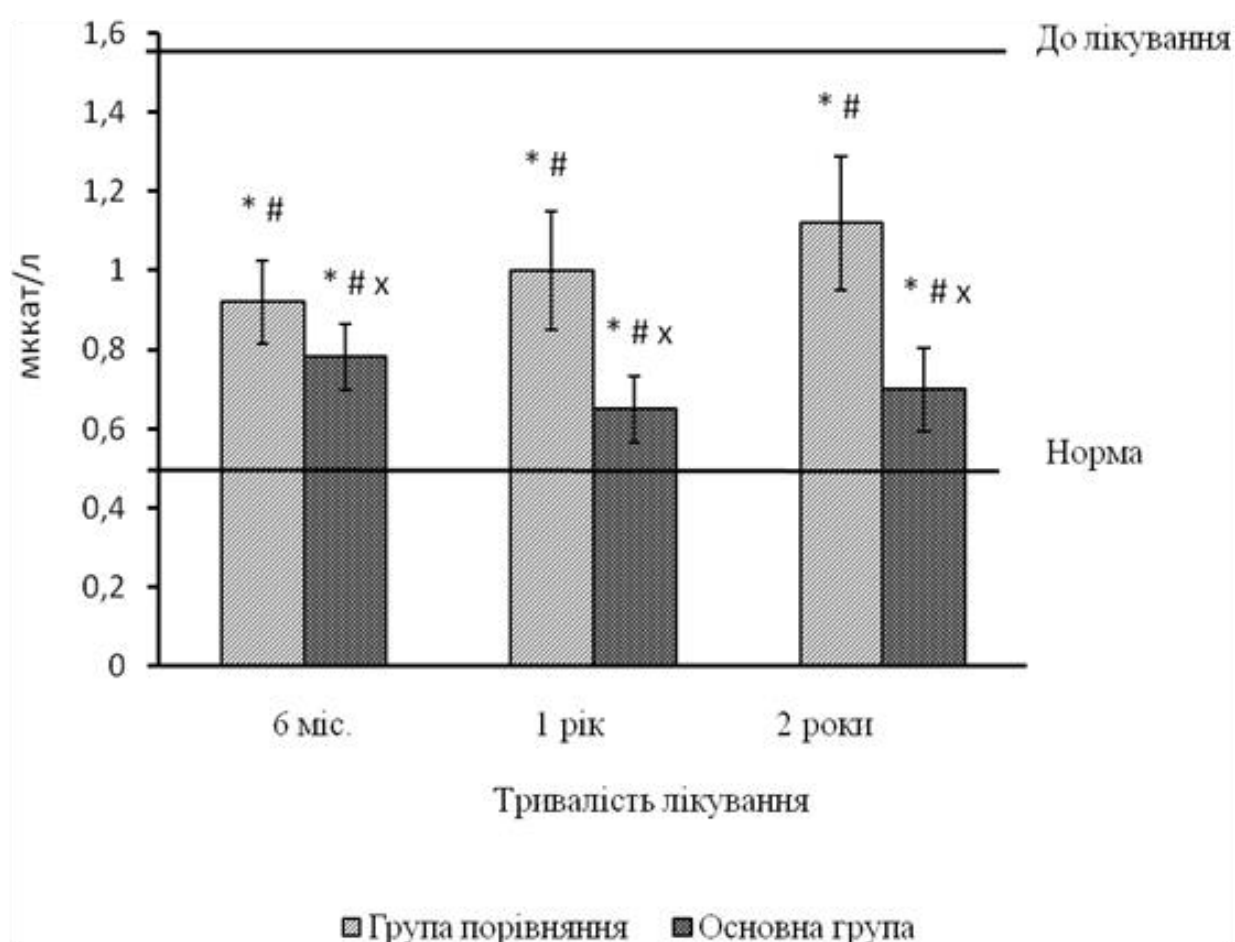


Рис. 6.37. Активність кислої фосфатази в ротовій рідині пацієнтів з ХГП II–III ступеня важкості.

Примітка:

- * – вірогідна розбіжність від показника норми,
- # – вірогідна розбіжність від показника до лікування,
- x – вірогідна розбіжність від показника групи порівняння.

Вертикальні риси – довірчі інтервали при $P = 0,95$.

Клінічний приклад пацієнта з генералізованим пародонтитом хронічного перебігу, II-III ступеня важкості. Лікування проводилось базисною терапією.

Виписка з історії хвороби № 89.917

Пацієнтка М., 37 років, жіночої статі, звернулася зі скаргами на кровоточивість ясен під час чищення зубів, біль в яснах і неприємний запах з рота.

Об'єктивно: ясенні сосочки, ясенний край гіперемійовані, набряклі (рис. 6.38). При зондуванні ясна кровоточать. Наявність зубних відкладень.

Проведено рентгенологічне дослідження. На рентгенограмі: резорбція кісткової тканини альвеолярного відростка на $\frac{1}{2}$ та на $\frac{2}{3}$ коренів зубів (рис.6.39).

Глибина пародонтальних кишень 4-10 мм, рецесія ясен відсутня, рухливість зубів I-II ступеня (рис.6.40).

Діагноз: Генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II-III ступеня.



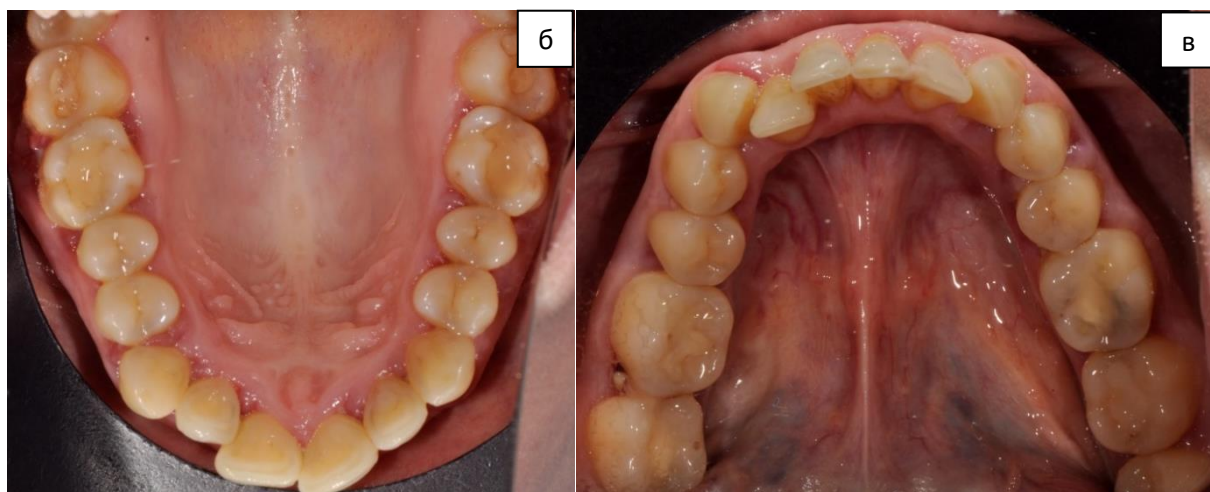


Рис. 6.38. Макрофотографії ротової порожнини пацієнтки М. до лікування: а—в центральній оклюзії; б —верхня щелепа; в —нижня щелепа.



Рис. 6.39. Ортопантомографія пацієнтки М. до лікування.

Лікування: зняття зубних відкладень, згладжування поверхонь коренів з антисептичною обробкою порожнини рота 0,12% розчином біглюконату хлоргексидину. Біоплівку і мінералізовані зубні відкладення видаляли звуковим інструментом «Sonyflex», хендібластером «Prophiflex» (KaVo), використовуючи порошок на основі гліцину - Perio (KaVo). Згладжування поверхонь коренів проводили за допомогою зоноспецифічних кюрет Грейсі

(Hu-Friedy) . Призначення гігієнічного догляду за ротовою порожниною, який включав щоденну 2-кратну чистку зубів з використанням лікувально-профілактичного гігієнічного комплексу: зубної пасти GUM «ActiVital», зубної щітки TePe «Supreme», ополіскувача GUM «ActiVital», а також йоржиків для очищення міжзубних проміжків, підібраних за розміром.

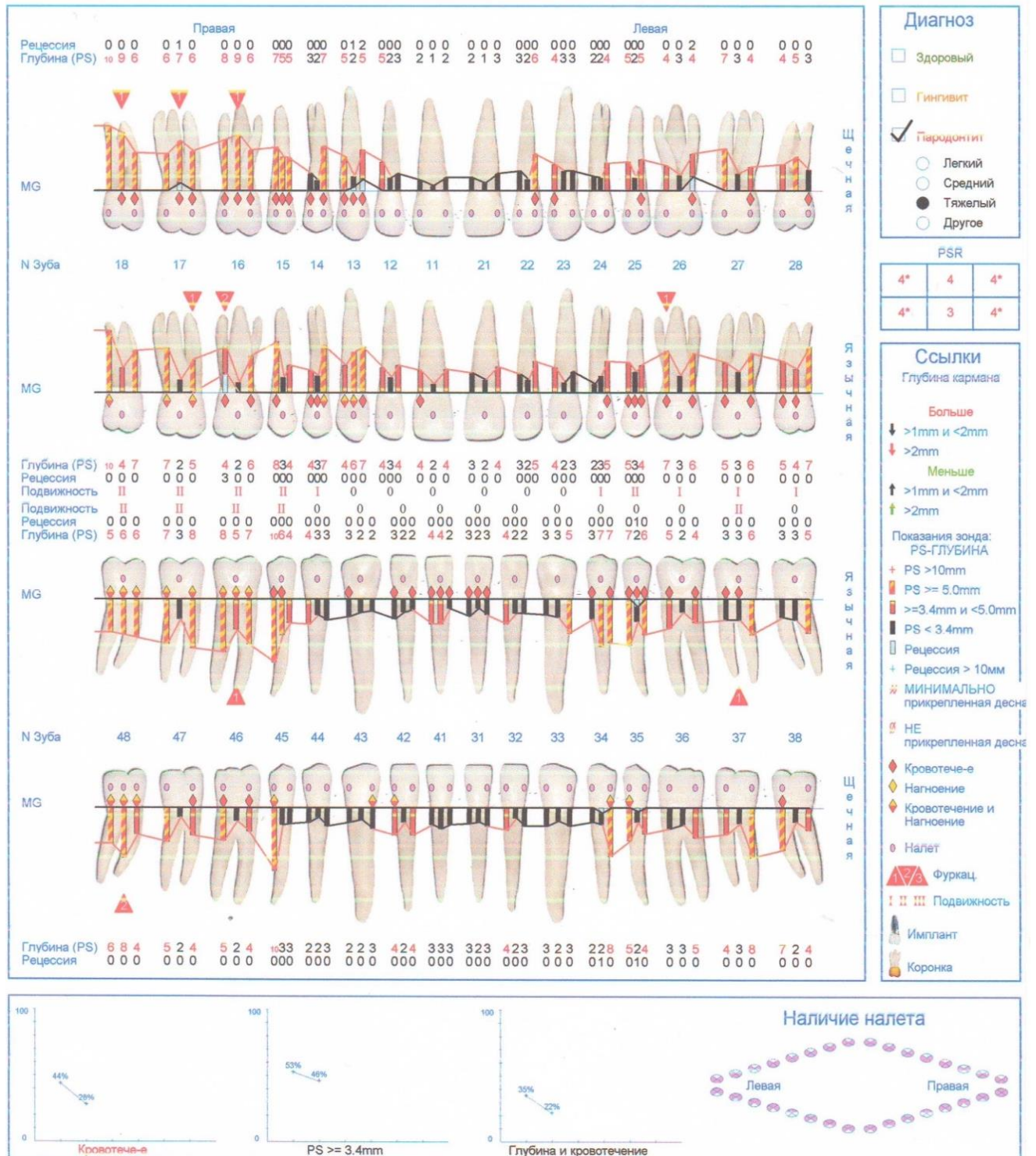


Рис. 6.40. Пародонтальная карта до лікування пацієнтки М.

Після проведенного лікування базисною терапією видно покращення стану м'яких тканин, зменшення набряку та зміну кольору слизової ясен з гіперемованих на блідо-рожеві, збільшення щільності м'яких тканин (рис.6.41). На ортопантомограммі через 2 роки значних покращень не відзначається, лишається резорбція кісткової тканини більш ніж на $\frac{2}{3}$ кореня (рис.6.42). На пародонтальній карті через 2 роки лишаються пародонтальні кишені глибиною від 4мм до 10мм, рухливість зубів I-II ступенів. (рис.6.43). Це говорить про терапевтичний ефект та покращення стану м'яких тканин після проведенного лікування, та стан кісткової тканини та пародонтальної зв'язки лишається не зміненим. В данному випадку за рахунок підтримуючої терапії та мотивації пацієнтів до якісної гігієни ротової порожнини не відбувається прогресування захворювання, але стан пародонтальних тканин окрім слизової ясен лишається майже таким, як і до проведенного лікування.



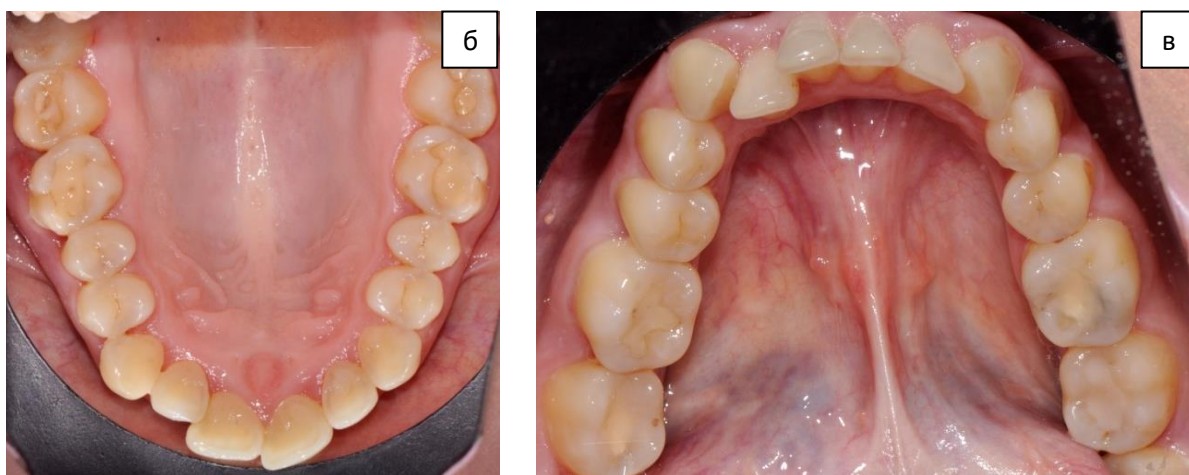


Рис. 6.41. Макрофотографії ротової порожнини пацієнтки М. після лікування: а—в центральній оклюзії; б —верхня щелепа; в —нижня щелепа.



Рис. 6.42. Ортопантомографія пацієнтки М. після лікування

Рис. 6.43. Пародонтальна карта після лікування пацієнтки М.

Клінічний приклад пацієнта з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості лікування проводилось комплексом препаратів плазмогель, гіалурановою кислотою та і-PRF.

Виписка з історії хвороби № 99.912.

Пацієнт Н., 39 років, чоловічої статі, звернувся зі скаргами на кровоточивість ясен під час чищення зубів, біль в яснах і неприємний запах з рота.

Об'єктивно: ясенні сосочки, ясенний край блідо-рожевого кольору, рецесія ясен 2-3 мм (рис. 6.44). При зондуванні ясна кровоточать. Наявність під'ясенних зубних відкладень. Проведено рентгенологічне дослідження. На рентгенограмі: резорбція кісткової тканини альвеолярного відростка на $\frac{1}{2}$ та на $\frac{2}{3}$ коренів зубів (рис.6.45).

Глибина пародонтальних кишень складає 4-8 мм, рухливість зубів I ступеню (рис.6.48).

Діагноз: Генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II-III ступеня.



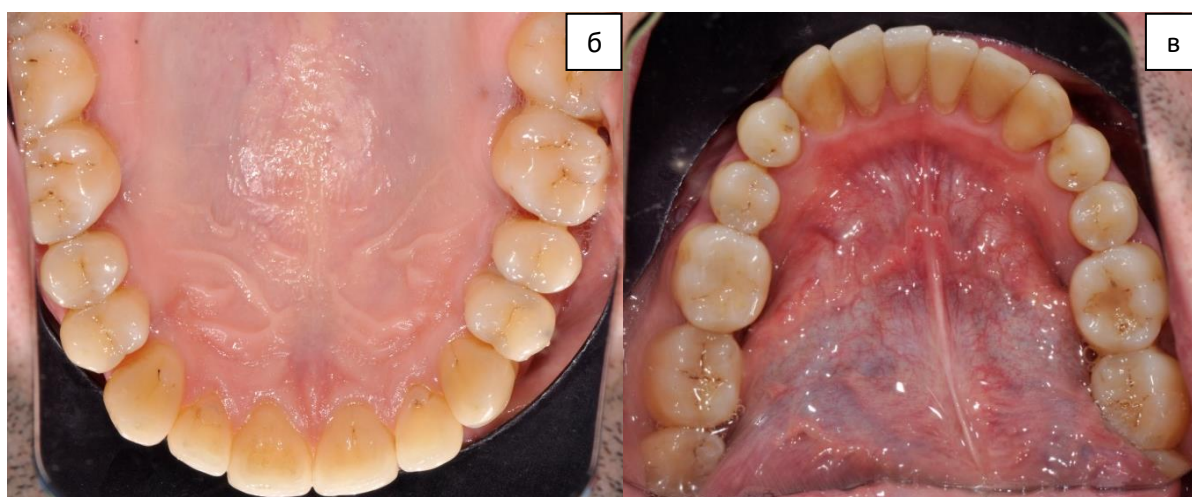


Рис. 6.44. Макрофотографії ротової порожнини пацієнта Н. до лікування: а–в центральній оклюзії; б –верхня щелепа; в –нижня щелепа.



Рис. 6.45. Ортопантомографія пацієнта Н. до лікування

Лікування: пацієнту було проведено зняття зубних відкладень, згладжування поверхонь коренів з антисептичної обробкою порожнини рота 0,12% розчином біглюконату хлоргексидину. Біоплівку і мінералізовані зубні відкладення видаляли звуковим інструментом «Sonyflex», хендібластером «Prophiflex» (KaVo), використовуючи порошок на основі гліцину - Perio (KaVo). Згладжування поверхні коренів проводили за допомогою

зоноспецифічних кюрет Грейсі (Hu-Friedy). Призначення гігієнічного догляду за ротовою порожниною, який включав щоденну 2-кратну чистку зубів з використанням лікувально-профілактичного гігієнічного комплексу: зубної пасти GUM «ActiVital», зубної щітки TePe «Supreme», ополіскувача GUM «ActiVital», а також йоржиків для очищення міжзубних проміжків, підібраних за розміром. Наступним етапом було застосування консервативної регенеративної методики застосування комплексу препаратів плазмогель, 3 введення в пародонтальні кишені з інтервалом 7 днів, 1 інсталяція препаратом гіалуронової кислоти в пародонтальні кишені та кожні 6 місяців для підтримуючої терапії, окрім професійної гігієни пацієнту проводили курс i-PRF-5 процедур, інтервал введення 7 днів.



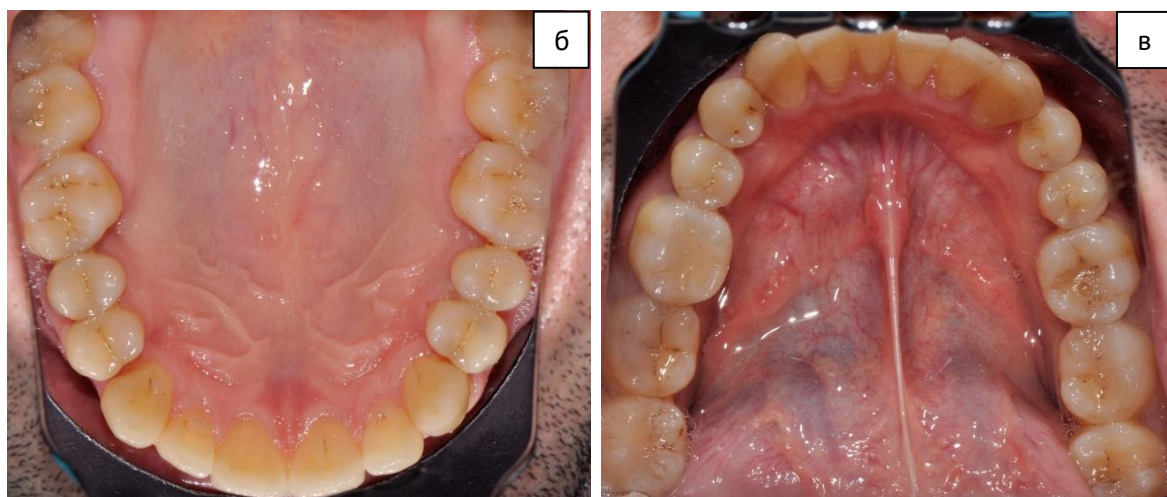


Рис. 6.46. Макрофотографії ротової порожнини пацієнта Н. після лікування: а–в центральній оклюзії; б –верхня щелепа; в –нижня щелепа.



Рис. 6.47. Ортопантомографія пацієнта Н. після лікування

Після проведеного лікування можна відмітити за даними рентгенографії (рис.6.47) значне покращення стану тканин пародонтального комплексу (рис.6.46), та пародонтологічного зондування (рис. 6.49), зменшення глибини пародонтальних кишень. Це свідчить про покращення стану сполучно-тканинного прикріплення, зменшення кісткових кишень, відсутність рухливості зубів. Глибина рецесій ясен лишилась 2-3 мм, що дає можливість припустити, що застосування препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти призводить до

покращення трофіки тканин пародонту, за рахунок покращення кровопостачання та збільшенню щільності ясен, і тим самим зменшує ризик прогресування рецесії після проведення пародонтологічного лікування.

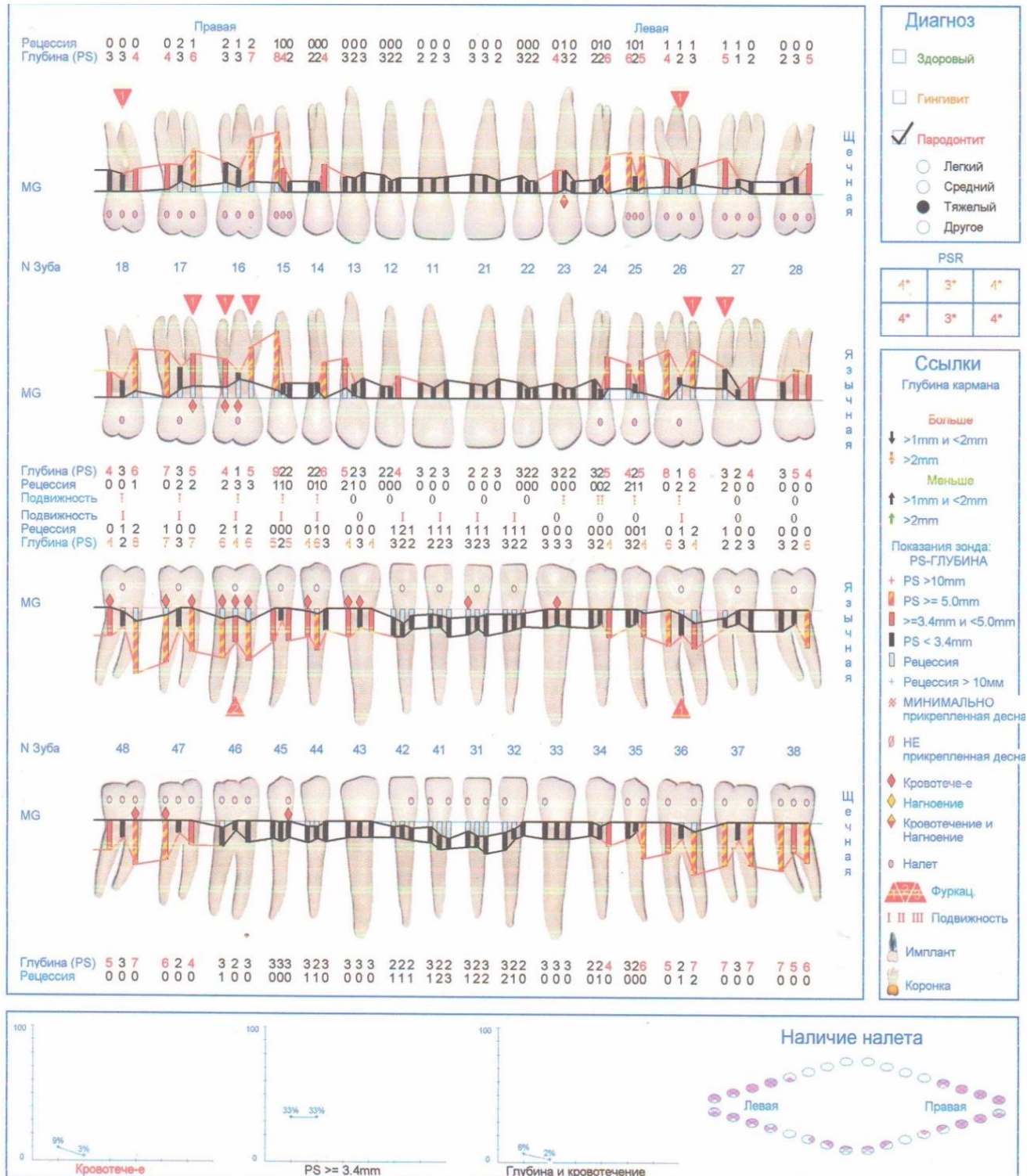


Рис.6.48. Пародонтальная карта до лікування пацієнта Н.

Рис. 6.49. Пародонтальна карта після лікування пацієнта Н.

Клінічний приклад хірургічного лікування стандартною методикою направленої кісткової регенерації пацієнта з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості.

Виписка з історії хвороби № 29.916

Пацієнтка В., 44 років, жіночої статі, звернулася зі скаргами на кровоточивість ясен під час чищення зубів, рухомість зубів, і біль в яснах і неприємний запах з рота.

Об'єктивно: ясенні сосочки, ясенний край гіперемійовані, набряклі (рис. 6.50). При зондуванні ясна кровоточать. Наявність зубних відкладень. Глибина пародонтальних кишень 4-9 мм, рецесія 1-2 мм, рухливість зубів I-II ступеня (рис. 6.54).

Проведено рентгенологічне дослідження. На рентгенограмі: резорбція кісткової тканини альвеолярного відростка на $\frac{1}{2}$ та на $\frac{2}{3}$ коренів зубів (рис. 6.52).

Діагноз: Генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II-III ступеня.

Лікування: за 2 дні до операції пацієнтка отримувала курс антибіотикотерапії (аугментин по 875/125 мг 2 рази на добу, курсом на 7 днів), антигістамінний препарат Кларитин (по 1 таблетці, 1 раз на добу, 7 днів). Для регулювання рівноваги мікрофлори ротової порожнини та шлунково-кишкового тракту пробіотики БіоГая Продентіс по 1 пастильці, 1 раз на день, на протязі 30 днів.

Під інфільтраційною анестезією з вестибулярної та оральної сторони ясен проводився горизонтальний розріз по верхівкам міжзубних сосочків, зберігаючи конфігурацію ясеневого краю. По краям ділянки операції (область зубів 1.8-1.5, 3.8-3.5, 4.5-4.8) виконували 2 вертикальні розрізи до кістки, які йшли від краю ясен по направленню до перехідної складки. Слизово-надокістні клапті відшаровували распатером з вестибулярної та оральної поверхні. Ножицями проводили деепітелізацію тканин. Після чого пародонтальними кюретами та ультразвуковим апаратом LM проводили ревізію поверхні коренів

зубів і пародонтального дефекту. Згладжування поверхонь виконували з максимальним збереженням здорової кісткової тканини. Антисептична обробка операційного поля проводилась стерильним розчином 0,12% хлоргексидину, очищення поверхні кореня виконувалось за допомогою препарату PrefGel (рН нейтральний препарат з 24% розчином EDTA, Straumann, Швейцарія). Кісткові дефекти заповнювали остеопластичним остеокондуктивним матеріалом Cerabone (Botiss, Німеччина). Поверх відновленого пародонтального дефекту у пацієнтів групи порівняння використовували колагенову мембрану Jason (Botiss, Німеччина). Після чого адаптували клапті на місце та виконували ушивання в міжзубному проміжку.

В післяопераційному періоді призначали щадну дієту, за необхідністю анальгетики, антисептична обробка ротової порожнини тричі на день розчином хлоргексидину 0,12 %. Шви знімали на 7-10 добу після хірургічного втручання.





Рис. 6.50. Макрофотографії ротової порожнини пацієнтки В. до лікування:
а–в центральній оклюзії; б –верхня щелепа; в –нижня щелепа.

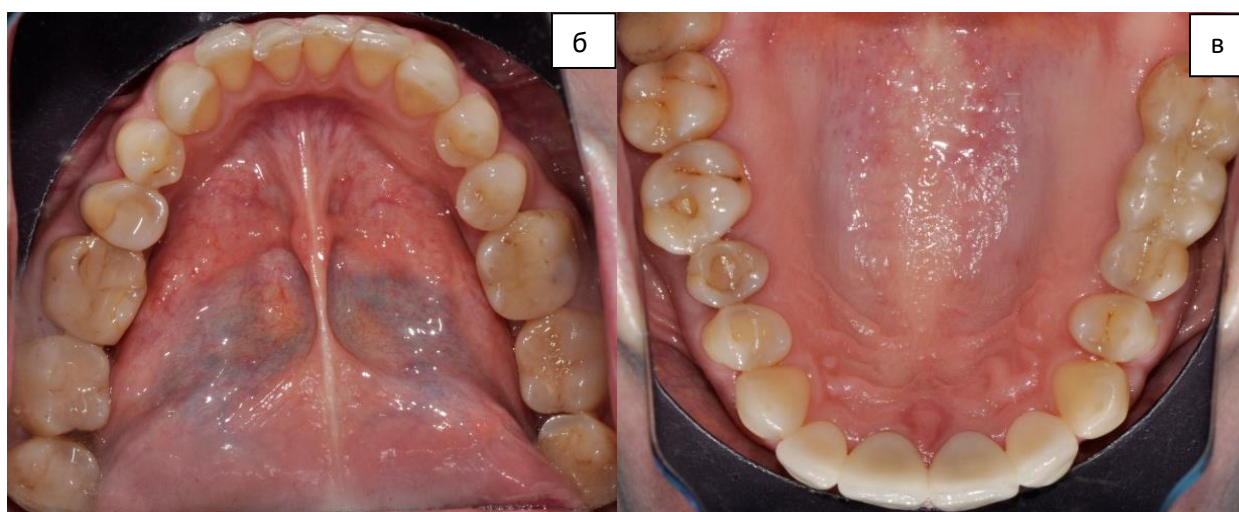


Рис. 6.51. Макрофотографії ротової порожнини пацієнтки В. після лікування:
а–в центральній оклюзії; б –нижня щелепа; в –верхня щелепа.



Рис. 6.52. Ортопантомографія пацієнтки В. до лікування.



Рис. 6.53. Ортопантомографія пацієнтки В. після лікування.

Рис. 6.54. Пародонтальна карта до лікування пацієнтки В.

Рис. 6.55. Пародонтальна карта після лікування пацієнтки В.

Клінічний приклад хірургічного лікування методикою з використанням комбінації PRP та препарату гіалуронової кислоти направленої кісткової регенерації пацієнта з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості.

Виписка з історії хвороби № 38.812

Пацієнтка М., 46 років, жіночої статі, звернулася зі скаргами на кровоточивість ясен під час чищення зубів, біль в яснах і неприємний запах з рота, рухомість зубів.

Об'єктивно: ясенні сосочки, ясенний край гіперемійовані, набряклі (рис. 6.56). При зондуванні ясна кровоточать. Наявність зубних відкладень. Наявність гіперконтактів зубів на зубах 1.1, 2.1. Глибина пародонтальних кишень 4-9 мм, рецесія 1-2 мм, рухливість зубів I-II ступенів (рис. 6.60).

Проведено рентгенологічне дослідження. На рентгенограмі: резорбція кісткової тканини альвеолярного відростка на $\frac{1}{2}$ та на $\frac{2}{3}$ коренів зубів (рис. 6.58).

Діагноз: Генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II-III ступеня.

Лікування: базова терапія, вибіркове прищліфовування гіперконтактів на 1.1, 2.1 зубах для корекції травматичної оклюзії. За 2 дні до операції пацієнтка отримувала курс антибіотикотерапії (аугментин по 875/125 мг 2 рази на добу, курсом на 7 днів), антигістамінний препарат Кларитин (по 1 таблетці, 1 раз на добу, 7 днів). Для регулювання рівноваги мікрофлори ротової порожнини та шлунково-кишкового тракту пробіотики БіоГая Продентіс по 1 пастилки, 1 раз на день, на протязі 30 днів.

Під інфільтраційною анестезією з вестибулярної та оральної сторони ясен проводився горизонтальний розріз по верхівкам міжзубних сосочків, зберігаючи конфігурацію ясеневого краю. По краям ділянки операції (область зубів 1.7-1.4, 2.4-2.5, 3.4-3.7, 4.4-4.7) виконували 2 вертикальні розрізи до кістки, які йшли від краю ясен по направленню до перехідної складки. Слизово-надокістні клапти відшаровували распатером з вестибулярної та оральної

поверхні. Ножицями проводили дсепітелізацію тканин. Після чого пародонтальними кюретами та ультразвуковим насадками для ультразвукового апарату LM проводили ревізію поверхні коренів зубів і пародонтального дефекту. Згладжування поверхонь виконували з максимальним збереженням здорової кісткової тканини. Антисептична обробка операційного поля проводилась стерильним розчином 0,12 % хлоргексидину, поверхні оголених коренів обробляли препаратом ПрефГель (Straumann, Швейцарія), після чого промивали пародонтальний дефект фізіологічним розчином, кісткові дефекти заповнювали остеопластичним матеріалом Cerabone (Botiss, Німеччина) змішаним з препаратом гіалуронової кислоти hyaDENT BG, поверх пародонтального дефекту вкладали колагенову мембрану Jason (Botiss, Німеччина) оброблену з обох поверхонь PRP та препаратом гіалуронової кислоти. Після чого адаптували клапті на місце та виконували ушивання в міжзубному проміжку.

В післяопераційному періоді призначали щадну дієту, за необхідністю анальгетики, антисептична обробка ротової порожнини тричі на день розчином хлоргексидину 0,12 %. Шви знімали на 7-10 добу після хірургічного втручання.

Після проведено лікування у пацієнтки М. (рис. 6.57), можна відмітити збільшення щільності слизової ясен, відсутність кровотечі при зондуванні, зменшення резорбції кісткової тканини (рис. 6.59), вірогідне зменшення глибини пародонтальних кишень (рис. 6.61).



Рис. 6.56. Макрофотографії ротової порожнини пацієнтки М. до лікування:
а – в центральній оклюзії; б – бічна права оклюзія; в – бічна ліва оклюзія.





Рис. 6.57. Макрофотографії ротової порожнини пацієнтки М. після лікування: а – в центральній оклюзії; б – бічна права оклюзія; в – бічна ліва оклюзія.



Рис. 6.58. Ортопантомографія пацієнтки М. до лікування



Рис. 6.59. Ортопантомографія пацієнтки М після лікування

Рис. 6.60. Пародонтальна карта до лікування пацієнтки М.

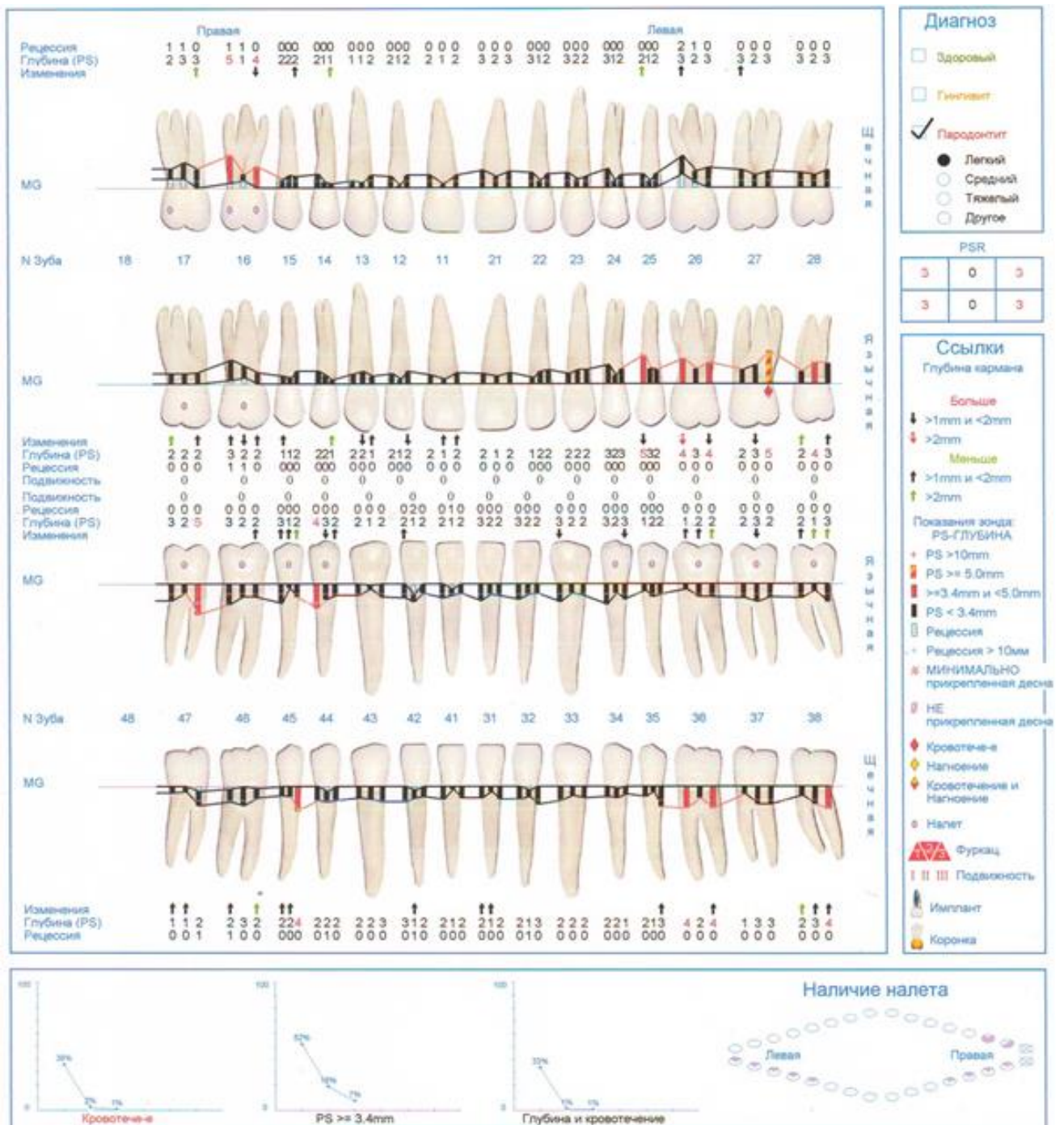


Рис. 6.61. Пародонтальная карта після лікування пацієнтки М.

Після проведеного хірургічного втручання об'єктивно можна відзначити вірогідне покращення стану тканин пародонтального комплексу і у пацієнтів прооперованих за стандартною методикою і у пацієнтів, яким до стандартної методики направленої кісткової регенерації додавалась комбінація PRP та препарату гіалуронової кислоти. Але в основній групі лікування через 2 роки спостерігається більш стійкий довготривалий ефект, зменшення глибини пародонтальних кишень з 5-9мм до 4-5мм, зменшення фуркаційних уражень та повну відсутність рухомості зубів.

Резюме

За результатами проведених клініко-функціональних та біохімічних досліджень доведена ефективність застосування препаратів аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти в комплексному лікуванні пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтом.

При клінічній оцінці консервативних регенеративних методик лікування в результаті проведеного лікування через 2 роки відбулося покращення індексу гігієни на 29,95 %, індекс кровоточивості ВОР зменшення в 2,9 разів, глибина пародонтальних кишень зменшилась на 29 %, ступінь рухливості зубів зменшився на 36,52 %, глибина рецесії після лікування зменшилась в 1,15 разів, індекс втрати ясеневого прикріплення зменшився в 1,6 раз, ураження фуркації зменшилось до 2,8 разів.

При оцінці гігієни після проведення хірургічних регенеративних методик через 2 роки, відбулося зменшення в групі порівняння в 2 рази, в основній групі зменшення в 7,3 рази у порівнянні з до лікування. Індекс кровоточивості знизився в групі порівняння в 1,8 разів, а в основній групі в 4,5 разів. Глибина пародонтальних кишень в групі порівняння зменшилась в 1,10 разів, в основній групі в 1,30 разів. Глибина рецесії, в групі порівняння збільшилась в 1,4 рази, в основній групі зменшилась в 1,07 рази. Втрата епітеліального прикріплення в групі порівняння зменшилась в 1,07 разів, в

основній групі зменшення відбулося в 1,23 рази. Ураження фуркації в групі порівняння зменшилось в 1,5 рази, в основній групі зменшення в 1,6 разів. Рухомість зубів у групі порівняння зменшилась в 1,8 разів, в основній групі зменшилась в 2,32 рази.

Що дозволяє дійти висновку, що результат зменшення поглиблення рецесії відбувається в основній групі, за рахунок використання під час хірургічного втручання препарату гіалуронової кислоти, який є своєрідним матриксом для утворення кісткової тканини і утримання висоти ясеневого контуру.

При дослідженні мікроциркуляції чітко видно, що покращення кровотоку відбулося після проведеного лікування, як в основній групі, так і в групі порівняння. Та у віддаленому терміні, через 2 роки, можна відмітити, що показник в групі порівняння поступово починає знижуватись, а в основній групі лишається так само на високому рівні.

Після проведеного хірургічного лікування показники гемодинаміки в обох групах у віддаленому терміні спостереження, через 2 роки, відбувається вірогідне зниження показнику, що дає можливість припустити, що навіть після хірургічного втручання з метою регенерації тканин пародонту при важкому ступеню дистрофічних уражень, без підтримуючої терапії з введенням препаратів аутоплазми, ін'єкційно кожні 6 місяців, мікроциркуляція в скомпрометованих тканинах починає погіршуватись.

В результаті біохімічних досліджень регенеративних методик вірогідно доведено, що застосування всіх регенеративних методик покращує показники ротової рідини пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості, це говорить про активацію метаболічних процесів в пародонтальному комплексі. У жодного з пацієнтів не було виявлено ознак токсичної дії препаратів або алергічних реакцій.

Найбільш достовірне зниження активності еластази та вмісту МДА, підвищення активності каталази та вмісту гіалуронової кислоти ми отримали в групах, де для консервативного лікування хронічного генералізованого

пародонтиту застосовували препарати аутоплазми та гіалуронової кислоти, а саме плазмогель, гіалуронову кислоту та i-PRF, для підтримуючої терапії кожні 6 місяців. Також достатньо вірогідне покращення відбулося в групах з застосуванням препаратів АМК та PRP, але майже всі пацієнти відмічали, що введення даних препаратів аутоплазми є достатньо болісним, це провокує активатор, який додається для отримання високого вмісту тромбоцитарних факторів росту.

Також не можна не зважати на соціально-економічну складову регенеративних препаратів, препарати плазми, які отримані за стандартними методиками є значно дешевшими в порівнянні з препаратами, які виготовляються за допомогою клітинної лабораторії.

При клініко-лабораторній оцінці ефективності проведеного хірургічного лікування в основній і контрольній групах хворих, встановлено значне поліпшення загального гігієнічного стану порожнини рота, як в контрольній, так і в основній групі. Зменшення активності еластази, уреаз, вмісту МДА, підвищення активності каталази та вмісту гіалуронової кислоти.

Однак, динаміка зміни біохімічних показників у віддалені терміни лікування, через 1 та 2 роки мала стійке покращення в основній групі де до стандартної методики направленої кісткової регенерації додавали ще препарати аутоплазми та гіалуронової кислоти.

По результатам дослідження можна сказати, що стан антиоксидантно-прооксидантної системи тканин пародонту до лікування має значний зсув в сторону збільшення прооксидантних факторів. Після проведеного лікування стан системі покращився, але в жодній з груп не дійшов до показника норми, так як пацієнти з ХГП II-III ступеня важкості мають довготривалий перебіг захворювання і значне виснаження антиоксидантної системи. Але все ж таки в групі в факторах росту та гіалуроновою кислотою показник вірогідно підвищився, що говорить про зменшення активності оксигеназ і збільшення активності каталази. Це дозволяє рекомендувати запропоновану методику для

покращення індукції захисних антиоксидантних систем і резистентності тканин пародонту від пошкоджуючої дії вільних радикалів.

Основні положення розділу висвітлені в публікаціях:

1. Вишневская А.А. Анализ клинической эффективности препаратов аутоплазмы в комплексном лечении генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - №35. – С. 34-37. *Участь здобувача полягає у лікуванні хворих, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

2. Вишневская А.А. Клиническая оценка методов регенеративной терапии в комплексном лечении генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - № 32. – С. 63-67. *Участь здобувача полягає у лікуванні хворих, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Обґрунтуванням мети роботи є широка розповсюдженість генералізованого пародонтиту, який робить істотний негативний вплив на стоматологічний статус пацієнтів, біохімічні параметри ротової рідини, мікроциркуляцію пародонту, резорбцію кісткової тканини і в подальшому втрату пацієнтом зубів. Хронічний генералізований пародонтит, одна з найбільш поширених патологій людства, приносить людині фізичні, психологічні страждання, що призводять до ранньої втрати зубів, зниження функціональних можливостей зубощелепної системи, утворення вогнищ хронічної інфекції, що призводять до розвитку соматичної патології, сенсibiliзації організму [8-10].

При пародонтиті руйнування пародонта відбувається за рахунок утворення біоплівки і подальшого хронічного запалення періодонтальної зв'язки [31-33]. Якщо запалення в тканинах зберігається, то руйнується не тільки складна структура м'яких тканин періодонтальної зв'язки, але також зменшується маса альвеолярної кістки і резорбується цемент [59,60]. При важкому ступеню пародонтиту періодонт більше не може стабілізувати зуб. Також в попередніх дослідженнях було доведено, що пародонтит пов'язаний з системними захворюваннями, такими як серцево-судинні захворювання, діабет, рак грудей і несприятливі наслідки вагітності [326], що збільшує тяжкість цього захворювання пародонту і необхідність пошуку нових терапевтичних підходів до лікування.

По суті ХГП є хронічним рецидивуючим інфекційним захворюванням з тривалою персистенцією патогенів, при якому ефективність антибактеріальної монотерапії достатньо низька. При взаємодії мікроорганізмів з захисними механізмами людини відбувається їх адаптація, яка обумовлює виживання з формуванням резистентних штамів бактерій [24-26].

Оцінка стану тканин пародонта, виявлення особливостей перебігу їх захворювань, розробка та впровадження в практику методів і засобів лікування та профілактики захворювань тканин пародонту є актуальною проблемою сучасної медицини, яка вимагає поглибленого дослідження, узагальнення та обґрунтування практичних рекомендацій щодо поліпшення стоматологічного здоров'я людей.

Дані літератури свідчать про відсутність прогресу на етапах лікування хронічного генералізованого пародонтиту. Неухильне прогресування запально-деструктивних процесів в тканинах пародонту, низька ефективність комплексного лікування, відсутність профілактики, короткострокові ремісії обумовлюють необхідність пошуку нових методів і засобів терапії.

Існуючі методи лікування генералізованого пародонтиту в даний час недостатньо ефективні і потребують удосконалення та детальної уваги до можливостей використання таких регенеративних методик, як плазмотерапія та препарати гіалуронової кислоти для відновлення пародонтального комплексу, підвищення активності антиоксидантної системи організму і пролонгування отриманих результатів лікування.

Регенеративна медицина і тканинна інженерія спрямовані на відновлення як структури, так і функцій пошкоджених тканин [327]. В останні роки були розроблені нові і більш ефективні стратегії регенерації. У цих нових підходах використовуються конкретні біосумісні і біоактивні композитні або природні каркаси, в які включаються клітини або біоактивні молекули для створення динамічного середовища для загоєння ран в пошкоджених тканинах [328]. Однак першочерговим завданням залишається розробка і оптимізація недорогих і ефективних терапевтичних методів [264].

Найбільш актуальними на сьогоднішній день у медицині є дві чітко сформовані тенденції в терапії будь-яких захворювань організму в цілому, і патології пародонта зокрема: по-перше, багаторівневий підхід до діагностики, лікування та профілактики виявленої патології. Даний аспект проявляється в комплексному, етіопатогенетичному, індивідуальному підході до виявленої

патології, системному і місцевому впливі застосовуваних медикаментозних і немедикаментозних методів лікування. Другий і не менш важливий аспект - акцент на застосування природних для організму людини компонентів, які виробляються та постійно знаходяться в тканинах для зниження медикаментозного навантаження на системи органів і тканин, зменшення кількості вживаних препаратів, що підвищує ефективність лікування і знижує його вартість [279]. До числа таких компонентів відносяться аутологічні фактори росту та гіалуронова кислота [329, 330].

Таким чином, на підставі вищевикладених фактів, нами був визначений науковий інтерес і обґрунтований вибір препаратів на основі аутологічної плазми та ГК для включення в схему регенеративної терапії з метою підвищення ефективності лікування генералізованого пародонтиту.

Регенерація – складний фізіологічний процес, в якому беруть участь багато систем організму [336]. По відношенню до пародонтального комплексу існують тромбоцитарні фактори росту. Фактори росту синтезуються практично всіма клітинами організму в біохімічно неактивній формі. Активація тромбоцитарних факторів росту в позаклітинному просторі відбувається в присутності вільних форм кисню, а також при дії деяких протеолітичних ферментів [270].

Таким чином, в самому процесі запалення виникають умови, що сприяють відновленню пошкоджених тканин.

Головною умовою повної регенерації при запаленні є припинення альтеративних і ексудативних процесів, це можливо при повній деструкції або при усуненні етіологічного фактору. В умовах, які складаються при пародонтиті, виникає персистуюча мікробна інвазія, яка перешкоджає повній регенерації тканин пародонту. Ротова порожнина людини стерильною бути не може, а пародонтит виникає в більшості у людей середнього віку, і швидкість деструкції кісткової тканини у різних пацієнтів значно варіює. Отже, є різні чинники, які мають негативний і позитивний вплив на стан тканини пародонту.

Дослідження проводились в 3 етапи.

I етап включав:

- аналіз особливостей пародонтологічного статусу пацієнтів з важкими формами хронічного генералізованного пародонтиту;
- дослідження показників мікроциркуляції пародонту у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом II-III ступеня важкості.

Для виконання даного етапу роботи було проведено обстеження 260 пацієнтів з генералізованим пародонтитом хронічного перебігу, II-III ступеня важкості, 35-55 років.

Комплексна оцінка включала:

- клінічне обстеження з визначенням об'єктивних гігієнічних і пародонтальних індексів з використанням комп'ютерної системи пародонтального зондування «Флорида Проуб»;
- рентгенологічне дослідження;
- вивчення біохімічних показників ротової рідини;
- вивчення гемодинамічних показників мікроциркуляторного русла за допомогою ультразвукової доплерографії.

За результатами проведеного обстеження пацієнтів з ХГП II-III ступеня важкості, встановлено, що 22,9 % мають глибину пародонтальних кишень більше ніж 5 мм. Майже у всіх пацієнтів при клінічному огляді були виявлені рецесії: 1 мм – 46,5 %, 2 мм – 32,0 %, 3 мм – 14,2 %, от 4 мм і вище 7,2 %.

Рівень гігієни за індексом гігієни О'Лірі до лікування у всіх пацієнтів був незадовільний і складав від $33,79 \pm 2,60$ % до $53,17 \pm 4,12$ %.

Індекс кровоточивості BOR у пацієнтів мав високий показник від $19,90 \pm 1,20$ % до $63,71 \pm 6,37$ %.

Рентгенологічне дослідження у всіх пацієнтів показало деструкцію кортикальної пластинки, а також резорбцію міжальвеолярних перегородок за змішаним типом від $\frac{1}{3}$ до $\frac{1}{2}$ довжини коренів зубів на верхній та нижній щелепах.

Показники мікроциркуляції у пацієнтів з генералізованим пародонтитом хронічного перебігу, II-III ступеня важкості мали вірогідне зниження, як

лінійних швидкостей кровотоку в мікросудинах пародонта: $V_{as} = 0,407 \pm 0,020$ см/сек., $V_{am} = 0,146 \pm 0,009$ см/сек., так і об'ємних швидкостей кровотоку: $Q_{as} = 0,0141 \pm 0,0005$ мл/сек., $Q_{am} = 0,0007 \pm 0,00001$ мл/сек.

II етап роботи включав експериментальну оцінку регенеративних можливостей пародонтального комплексу з використанням регенеративних препаратів при консервативному та хірургічному лікуванні.

У першому експерименті була відпрацьована «Перекисна модель» пародонтиту, для оцінки впливу ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми на регенеративні можливості тканин пародонту та на загальні метаболічні зміни в організмі щурів.

Після ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми у другому терміні спостереження у щурів відзначається вірогідне зниження рівня МДА в 1,2 рази в яснах та в 1,4 рази в сироватці крові. При цьому активність каталази в яснах у щурів збільшується в 1,3 рази та у сироватці крові в 1,6 разів, що свідчить про нормалізацію процесів в системі ПОЛ-АОС. А також вірогідне підвищення активності ЛФ в 2 рази у щелепній кістці в обидва терміни спостереження ($p < 0,001$), що говорить про активацію процесу ремоделювання кістки ($p < 0,001$).

Результати морфологічних досліджень ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми показали двухфазність впливу на пародонтальні тканини. Одразу після завершення курсу ін'єкцій тромбоцитарної аутоплазми відзначається активація метаболічних та регенеративних процесів в пародонті, запускається активний процес ремоделювання кісткової тканини – посилення остеокластичної резорбції «старої» кістки та формування «нової» кістки. У віддалені терміни спостереження відбувається формування нового епітеліального прикріплення, відновлення структури сполучної тканини з багатою кількістю новоутворених судин, стабілізація кісткової резорбції.

Для оцінки регенеративних можливостей консервативних методик плазмогелю та гіалуронової кислоти на біохімічні та морфологічні зміни пародонта була обрана «Лігатурна» модель пародонтиту.

В дослідженні було доведено, що застосування комплексу препаратів плазмогель та гіалуронова кислота має протизапальні властивості, про це свідчить вірогідне зниження ЗПА, як в I терміні у самок $1,0 \pm 0,08$ нкат / л і у самців $1,15 \pm 0,09$ нкат / л, так і в II терміні у самок $0,78 \pm 0,04$ нкат / л і самців $0,84 \pm 0,07$ нкат / л, що майже дорівнює показникам норми.

Комбінація плазмогелю та гіалуронової кислоти дозволяю підвищити захисні можливості організму, що доведено вірогідним підвищенням інгібітору трипсину в сироватці крові щурів у самок в I терміні в 1,7 рази, в II терміні в 2,6 раз, у самців в I терміні в 1,7 рази, в II терміні в 2,4 рази ($p_1 < 0,001$).

Важливим для процесів відновлення тканин пародонту є стан системи антиоксидантного захисту, зокрема зниження вмісту МДА у сироватці крові, у самок в першому терміні на 36,4 %, в другому терміні на 75,2 %, у самців в першому терміні на 50,0 %, у другому терміні на 74,2 % та збільшення активності каталази у самок в першому терміні на 43,2 %, в другому терміні на 56,6 %, у самців в першому терміні на 30,0 %, у другому терміні на 46,8 %. Зниження вмісту МДА, так само, відбувалось і в гомогенатах ясен у самок в першому терміні на 41,8 %, в другому терміні на 49,4 %, у самців в 1-му терміні на 38,7 %, у другому терміні 47,4 %. Активність каталази в тканинах ясен підвищувалась в першому терміні у самок на 36,3 %, у самців на 30,5 %, у другому терміні у самок на 80,0 %, у самців на 41,4 %.

Індекс АПІ в гомогенатах ясен при лікуванні плазмогелем та гіалуроновою кислотою у першому терміні збільшився у самок на 62,9 %, у самців на 57,4 %. Збільшення в другому терміні у самок відбулося на 71,8 %, у самців на 69,2 %.

За результатами проведених досліджень встановлено, що «лігатурна» модель пародонтиту призводить до різкого зниження вмісту ГК в гомогенатах ясен.

Гіалуронова кислота є високомолекулярним полісахаридом (глікозаміногліканом), який грає життєво важливу роль у функціонуванні позаклітинних матриксів, в тому числі мінералізованих і немінералізованих

тканин пародонта. Він є важливим компонентом позаклітинного матриксу і робить значний внесок в гідродинаміку тканин, міграцію і проліферацію клітин. Гіалуронова кислота також продукується фібробластами в присутності ендотоксину; він відіграє важливу протизапальну роль, пригнічуючи руйнування тканин і полегшуючи загоєння.

В області стоматології попередні клінічні випробування були проведені Vangelisti і Pagnacco et al. [331] в 1997 р. Гіалуронова кислота продемонструвала протизапальну, протинабрякову і антибактеріальну дію при лікуванні гінгівіту і пародонтиту. Протизапальний ефект може бути обумовлений дією екзогенної гіалуронової кислоти шляхом відведення простагландинів, металопротеїназ та інших біоактивних молекул. [332]

Протинабряковий ефект також може бути пов'язаний з осмотичною активністю. Завдяки прискоренню загоєння тканин гіалуронову кислоту можна використовувати в якості доповнення до механічної терапії. [333] Гіалуронова кислота була вивчена як метаболіт, а також як важливий фактор зростання, розвитку і відновлення тканин. [203-207]

У гомогенатах ясен групи лабораторних тварин яких лікували плазмогелем та гіалуроновою кислотою вміст ГК підвищувався в першому терміні у самок на 27,7 % і у самців на 37,7 %, в другому терміні у самок на 66,8 %, у самців на 63,0 %. Що говорить, про потенціювання ефектів при комбінованому застосуванні препарату плазмогель і препарату з вмістом гіалуронової кислоти.

Комбіноване застосування плазмогелю та гіалуронової кислоти у першому терміні призводило до підвищення активності КФ та ЛФ. Але в другому терміні показники активності КФ і ЛФ практично знизилися до показників в групі інтактних тварин $p > 0,4$, що дає можливість припустити, що активність остеокластів знижувалася, а активність остеобластів тривала і у другому терміні.

Проведені морфологічні дослідження показали, що виникає стереотипна тканинна реакція у всіх групах досліджуваних тварин. У першій

експериментальній групі тварин, де лікування не проводилось, у власній пластинці слизової оболонки ясен визначаються виражені ознаки хронічного запального процесу, виявлено фіброзування строми з формуванням щільних пучків колагенових волокон, також зустрічаються окремі ділянки значного розширення щілини з порушенням архітекtonіки періодонтальної зв'язки і заміщення відбувається в основному пучками безладно орієнтованих колагенових волокон, серед яких в основному визначаються фіброласти і фіброцити.

Препарат плазмogель є аутологічним гелем-наповнювачем, основним компонентом якого є складові власної плазми, яка пройшла термічну обробку. Наявність активних клітинних структур в даному гелі, відсутня, але при цьому він має високу щільність, адгезію і пластичність. При введенні в пародонтальні кишені даний біоматеріал заповнює дефект та закриває доступ для агресивного середовища ротової порожнини за рахунок адгезії до поверхні кореня та м'яких тканин. Плазмogель використовується для створення каркаса і мікросередовища для зростання власних колагенових волокон періодонтальної зв'язки.

Показник площі зайнятої колагеновими волокнами періодонтальної зв'язки не може бути відновлений на 100%, оскільки волокна періодонтальної зв'язки функціонально передають жувальне навантаження і тому постійно відбувається балансування між процесами руйнування волокон і їх відновленням. Для пацієнтів, які мають патологію тканин пародонта це так само є важливим моментом, так як у таких пацієнтів переважають процеси руйнування над процесами відновлення. Найбільша площа зайнята колагеновими волокнами періодонтальної зв'язки зафіксована в групі тварин де лікування проводили плазмogелем - 61,93%.

При оцінці результатів дослідження до уваги потрібно приймати той факт, що пародонтальні тканини є унікальними і представляють складний комплекс оточуючий зуб. Однією з функцій пародонта є опорно амортизуюча, яка сприяє утриманню зуба в альвеолі, розподіляючи жувальне навантаження і регулюючи тиск при жуванні. У різних відділах періодонтального простору

пучки колагенових волокон мають різне спрямування, забезпечуючи міцний зв'язок зуба з альвеолою, щодня за рахунок жувального навантаження відбувається руйнування і утворення колагенових волокон періодонтальної зв'язки [334].

Фактори, що впливають на регенерацію пародонта, досить складні, це правильний тип і достатня кількість клітин, сприятливе мікросередовище з біологічними сигналами і відповідні матрикси каркасів мають вирішальне значення для регенерації. У раніше проведених дослідженнях йдеться про здатність періодонтальної зв'язки до регенерації при створенні умов для загоєння у вигляді відмежування ясенного епітелію і сполучної тканини, за допомогою мембран (бар'єрів), від поверхні кореня зуба [335].

Біоматеріали, які мають властивості тканин самого пацієнта, зменшують ризики імунного відторгнення і мають великі можливості для регенерації тканин [228]. Також можливі не тільки варіанти, в яких застосовуються біоматеріали, які містять стовбурові клітини і фактори росту, але і матеріали що імітують структуру самих тканин пародонта, це може сприяти створенню мікросередовища для подальшої регенерації [280]. Оцінка цього методу з використанням моделі дефекту пародонта кролика показала, що безклітинна конструкція може індукувати повну регенерацію тканин в пародонті [224].

Виходячи з вищевикладеного, препарат плазмгель можна віднести до біоматеріалів, які не мають ризиків для застосування у пацієнтів з вираженою імунною відповіддю, оскільки практично відсутні ризики відторгнення і алергічних реакцій. При локальному введенні, у досліджуваних тварин не відзначалося місцевої негативної реакції на введення. Також, важливо, що препарат зручний у використанні, гель має хороші пластичні властивості, не розтікається і добре утримується в області дефекту тканин.

Для оцінки хірургічних регенеративних методик було відтворено три моделі дефектів:

- модель дефекту слизової оболонки альвеолярного відростка;
- модель дефекту альвеолярної кістки;

- модель мукогінгівального дефекту.

В сучасний період розвитку тканинної інженерії важливим компонентом є матрикс на якому будуть інтегруватись клітини для формування та відновлення тканин. Скаффолди є механічною основою для підтримки клітин, їх диференціювання та розповсюдження на протязі всього періоду формування нової тканини. Амніотична мембрана потенційно може бути використана в якості каркасу для різних біоінженерних матриксів для тканинної інженерії [337, 338].

PRP - це метод стимуляції регенеративних процесів в тканинах шляхом місцевого введення аутологічної збагаченої тромбоцитарної плазми виділеної з цільної крові пацієнта. Цей метод лікування пацієнтів за допомогою власної плазми крові PRP є сучасним рішенням в медицині, в результаті якого, прискорюється загоєння ран при великих травмах [268].

Препарати на основі гіалуронової кислоти активно використовуються в медицині в якості ефективного регенеруючого засобу. Завдяки своїм фізико-хімічним властивостям вона здатна взаємодіяти з іншими молекулами (води, білка і т. п.), що грає центральну роль в специфічних біологічних процесах [204, 293]. При патологічних станах концентрація гіалуронової кислоти в тканинах знижується, а клітинна проліферація і в цілому регенерація сповільнюються. Місцеве застосування гіалуронової кислоти дозволяє зробити цей процес сповільненим і досягти природної регенерації в тканинах. Гіалуронова кислота забезпечує міграцію фібробластів в осередок ураження і стимулює процес ангіогенезу, тим самим покращуючи місцеву мікроциркуляцію [206, 207].

Поєднання в єдиному біологічному комплексі децелюляризованої, ліофілізованої амніотичної мембрани людини, факторів росту та гіалуронової кислоти може значно прискорити процес регенерації та спростити реабілітацію в післяопераційний період [213].

При виготовленні децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани використання розчинів, що містять Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)

(Sigma) і 1% розчин Тритон X-100 повністю видаляють всі наявні клітини плаценти і хоріон-амніотичної мембрани, без пошкодження її структури, що було підтверджено візуально, а також за допомогою гістологічних методів дослідження, скануючої електронної мікроскопії та теста на ДНК.

Гістологічні методи дослідження і скануюча електронна мікроскопія децелюляризованої амніотичної мембрани показали неушкоджену структуру екстрацелюлярного матриксу та відсутність клітинних елементів. Структура екстрацелюлярного матриксу амніотичної мембрани зберігалася також після ліофілізації та регідратації.

Як показали результати дослідження препарат PRP та гіалуронова кислота рівномірно покривали обидві поверхні ліофілізованої та регідрірованої амніотичної мембрани. Таким чином розроблена нами біологічно - активна мембрана з нанесеними на її поверхню PRP в комбінації з гіалуроновою кислотою володіє пластичністю, може рівномірно вистилати дефекти тканин і щільно прилягати до тканин, не вимагає додаткових витрат в роботі та легка і зручна в експлуатації.

В результаті оцінки загоєння дефекту слизової альвеолярного відростку відразу ж після формування дефекту слизової оболонки ясен кровотеча швидко зупинялась в результаті формування щільного фібринозного згустку. Перша доба характеризувалась набряком тканин рани, фіброзним запаленням з незначною кількістю серозного ексудату. На другу добу в контрольній групі тварин відзначався виражений набряк навколишніх тканин та судинна гіперемія. У тварин в групах з ДАМ, ДАМ + PRP, ДАМ + PRP + ГК в ці ж терміни під мембраною визначалася щільна еластична маса.

При аналізі динаміки загоєння операційної рани по формулі Л.Н. Попової простежувалися такі особливості: у групі де загоєння відбувалося з ДАМ добове зменшення площі дефекту становило 6,6% на 3 добу, 5,3% на 5 добу, 4,8% на 7 добу; в групі ДАМ + PRP добове зменшення площі рани становило 8,8% на 3 добу, 6,6% на 5 добу, 6,1% на 7 добу; в групі ДАМ + PRP + ГК добове зменшення площі рани становило 8,8% на 3 добу, 8% на 5 добу, 6,6% на 7 добу,

що свідчить про те, що з 3 по 5 добу швидкість зменшення площі рани нижче, це говорить про фазу запалення. Потім при переході до II фази раньового процесу-фази регенерації (5-7 доба) площа рани стрімко зменшувалася і до 14 діб спостерігалася повна епітелізація операційної рани у всіх групах. Інша картина спостерігалася в контрольній групі в період з 3-ї до 5-ї доби відбувалось зниження показника добового зменшення площі рани місцями менше 4%, що свідчить про млявий або затяжний перебіг раньового процесу зі змінами періодів загострення і затихання зростання грануляцій та сповільненою епітелізацією. З 5 по 7 добу показник добового зменшення площі рани незначно виріс до 2,9%, що дає можливість припустити про перехід в фазу реорганізації рубця і остаточного формування рубцевої тканини до 14 доби.

Аналіз загоєння кісткового дефекту за результатами морфологічних досліджень показав, що регенерація кісткового дефекту через 2 місяці відбулась у всіх трьох групах. Але на 14-й день в першій групі, на відміну від другої, третьої та четвертої груп, практично не відзначається судин. У третій групі на відміну від другої на 7-й день відзначається наявність запальних елементів, але при цьому вже виявляються ділянки новосформованої кістки, що вказує на активну регенерацію кісткової тканини. В четвертій групі так само довше ніж у 1 та 2 групах присутні елементи запалення, але і в більш ранні строки відмічається поява новосформованої кістки та більша кількість судин. Що дає можливість рекомендувати використання додаткових біологічно активних матеріалів, децелюляризованої амніотичної мембрани, факторів росту PRP та гіалуронової кислоти для відновлення кісткової тканини при пародонтальних дефектах.

Вже на 7 добу на відміну від тварин контрольної групи у тварин з ДАМ, ДАМ + PRP, а також ДАМ + PRP + ГК мукогінгівальний дефект не визначався, а новостворений епітелій за формою і кольором не відрізнявся від норми. Згладжування епітеліального шару ясен спостерігалось зі злегка вираженою кератинізацією.

Проведення експериментальних досліджень на різних моделях патології пародонту за допомогою біохімічних та морфологічних методів дозволили обґрунтувати доцільність призначення комбінованої методики застосування препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти на етапі консервативного лікування, а також комбінованого посилення регенеративної дії під час хірургічного лікування при комбінуванні остеопластичних матеріалів, колагенової мембрани, тромбоцитарних факторів росту та гіалуронової кислоти.

III етап роботи включав клінічну оцінку ефективності застосування консервативних та хірургічних регенеративних методик.

На підставі проведених клініко-лабораторних, функціональних і експериментальних досліджень теоретично обґрунтований і розроблений комплекс регенеративної терапії при хронічному генералізованому пародонтиті II-III ступеня важкості (рис. 1).

Розроблені схеми лікування хронічного генералізованого пародонтиту II-III ступеня важкості, включають окрім базової терапії, застосування консервативних та хірургічних регенеративних методик.

Оцінка ефективності регенеративних методик проведена у 147 пацієнтів, які були розділені на тих, які отримували базову терапію – 15 осіб, консервативну регенеративну терапію різними препаратами аутоплазми та препаратом гіалуронової кислоти – 97 осіб та 35 осіб, яким було проведено хірургічне лікування.

Ефективність запропонованих регенеративних методик оцінювали на підставі клінічних показників після лікування через 1, 6, 12 та 24 місяців за результатами біохімічних досліджень ротової рідини і показників ультразвукової доплерографії.

Аналіз отриманих даних переконливо доводить, що дистрофічно-запальний процес в пародонті при хронічному генералізованому пародонтиті протікає нерівномірно, його інтенсивність залежить від ступеня залученості в

запальний процес навколишніх тканин, а також ступеня ураження альвеолярної кістки.



Рис. 1. Схема патогенетичної корекції порушень в пародонтальних тканинах.

Отримані результати комплексної оцінки метаболічного стану кісткової тканини свідчать про системне порушення ремоделювання альвеолярної кістки щелепи в залежності від ступеня інтенсивності запально-деструктивних змін пародонтальних тканин. В основі патологічних змін лежить підвищена резорбція кісткової тканини і зниження процесів її формування. Слід також враховувати той факт, що вплив місцевих (перевантаження збережених зубів, погана гігієна) і загальних (вікові особливості, поліморбідність) факторів на альвеолярну кістку посилюється з віком, і синтез новоствореної кісткової тканини не компенсує деструктивні зміни.

Таким чином, отримані дані підтверджують наявність особливостей ремоделювання альвеолярної кістки в залежності від ступеня інтенсивності запально-деструктивних змін пародонтальних тканин і свідчать про порушення процесів формування і резорбції кісткової тканини. Характерною особливістю обстежених хворих групи порівняння виявилася низька активність клітин остеобластної лінії і прискорення резорбції кісткової тканини, на що вказує подальше прогресування поглиблення пародонтальних кишень $5,19 \pm 0,22$ мм через 2 роки після лікування при тому, що показник до лікування становив - $4,87 \pm 0,18$ мм.

В ході клінічного дослідження, за показниками індексної оцінки ступеня кровоточивості, глибини пародонтальних кишень при зондуванні, втрати епітеліального прикріплення, гігієнічного індексу, оголення фуркації і інтенсивності запально-деструктивних змін в тканинах пародонта (згідно з об'єктивними даними біохімічного дослідження) оцінювали прогноз успішності пародонтологічної регенеративної терапії.

Слід зазначити, що встановлений попередній прогноз успішності пародонтологічної допомоги вимагав постійного спостереження в динаміці при не хірургічних методах лікування і при погіршенні стану тканин пародонтального комплексу активного переходу до етапу пародонтологічного хірургічного лікування.

Для динамічної оцінки ефективності проведеної терапії індекс гігієни О'Лірі та індекс кровоточивості ВОР були оцінені повторно через 2 роки після проведення лікування і санації порожнини рота. Отримані дані підтвердили істотну зміну стоматологічного статусу пацієнтів. Показники індексу гігієни та кровоточивості зазнали вірогідного зниження у всіх групах пацієнтів, а отже індекс гігієни О'Лірі у всіх обстежених зменшився на 29,95 %, індекс кровоточивості зменшився в 2,9 разів.

Одною з провідних ланок патогенезу генералізованого пародонтиту є порушення мікроциркуляції крові в тканинах пародонту у відповідь на запалення [120]. Завдяки своїм регуляторно-метаболічній та обмінній функціям

мікросудини є своєрідними індикаторами, які можуть реагувати навіть на незначні зміни в тканинах ясен ще до появи клінічних симптомів у пародонті. У зв'язку з цим система мікроциркуляції є вкрай чутливою ланкою, в якій відбувається постійна зміна показників мікрогемодинаміки [116,119].

Аналіз літературних даних показав, що у пацієнтів з запальними захворюваннями пародонта спостерігалось зниження тканинного кровотоку в яснах [118].

Актуальним методом дослідження є ультразвукова доплерографія, що дозволяє визначити гемодинамічні характеристики у всіх ланках мікроциркуляторного русла пародонту.

Отримані нами під час дослідження дані відповідали раніше проведеним роботам і відображали загальну тенденцію до зменшення тканинного кровотоку по мірі прогресування запально-дистрофічного процесу в пародонті.

Після проведеного лікування чітко видно, що покращення кровотоку відбулося, як в основній групі (через 1 рік – $1,217 \pm 0,035$ см/сек, через 2 роки – $1,297 \pm 0,061$ см/сек), так і в групі порівняння (через 1 рік – $0,729 \pm 0,031$ см/сек, через 2 роки – $0,632 \pm 0,025$ см/сек). На віддаленому терміні, через 2 роки, можна відмітити, що показник в групі порівняння поступово починає знижуватись, а в основній групі лишається так само на високому рівні. Це дає можливість припустити, що застосування в комплексі препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти призводить до формування нових судин в тканинах пародонтального комплексу, та покращує еластичність судинної стінки мікроциркуляторного русла. Вірогідний довготривалий результат підтримується ін'єкційним введенням кожні 6 місяців препарату i-PRF, для зменшення прозапальної активності за рахунок фібронектину, який входить до складу даного препарату плазми, а також за рахунок тромбоцитарних факторів росту стимулювання неоангеогенезу.

При дослідженні вмісту гіалуронової кислоти в ротовій рідині у всіх пацієнтів хворих на генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II – III

ступеня встановлено різке зниження показника $30,2 \pm 1,5$ мг/л відносно норми $52,8 \pm 2,0$ мг/л.

Після проведеного лікування у всіх основних групах відбулося вірогідне підвищення показнику, на відміну від групи порівняння, де показник вмісту гіалуронової кислоти підвищився всього на 2,3 %, а через 2 роки на 15,6 %.

Зменшення МДА, як показнику запалення, відзначено у ротовій рідині групи хворих, які отримували АМК: через 1 місяць - на 65,8 %, через 6 місяців - на 68,5 %, через 1 рік - на 69,7 % і через 2 роки - на 68,5 %, після проведеного курсу лікування, показник практично зрівнявся з даними норми $0,20 \pm 0,02$ ммоль / л. Також вірогідні дані зниження вмісту МДА у віддалені терміни після лікування були отримані в групах з PRP - на 57,9 % і з i-PRF - на 57,9 % у порівнянні з групою порівняння $0,40 \pm 0,03$ ммоль / л ($p_2 < 0,05$).

Після проведеного лікування найкращий результат підвищення АПІ був у групі з АМК та i-PRF терапії, та у віддалених термінах показник значно підвищується в групі з плазмогелем, гіалуроновою кислотою та i-PRF, для підтримуючої терапії кожні 6 місяців. Що говорить про здатність запропонованого методу лікування викликати індукцію антиоксидантної системи, що покращує резистентність тканин пародонту до шкідливої дії вільних радикалів та перекисів.

У групі, яка в комплексі лікування отримувала PRP, відзначалася тільки тенденція до зниження вмісту МДА на 35,6 %.

В групах, в яких з лікувальною метою застосовували тільки ін'єкційні методики аутоплазми (групи 2, 3, 4) на початкових термінах спостереження вміст ГК був вірогідно високим, але в віддалених термінах результат вірогідно знижувався

Отримані результати клінічного огляду показали, що проведене лікування призводило до зниження запалення в усіх досліджуваних групах, на що вказує зменшення показника кровоточивості. Однак, показник глибини пародонтальних кишень достовірно знижувався в групах із застосуванням

регенеративних методик. Найбільш оптимальний результат лікування був отриманий в групі, де застосовували комбінацію препаратів плазмогелю, гіалуронової кислоти і кожні 6 місяців підтримуючу терапію у вигляді ін'єкцій препарату i-PRF.

Отримані результати дослідження показали досить високу ефективність плазмогеля з тромбоцитарної аутоплазми і препарату гіалуронової кислоти hyaDENT BG, як самостійних лікарських засобів, при лікуванні генералізованого пародонтиту. Виражені достовірні підвищення вмісту гіалуронової кислоти були отримані при лікуванні з використанням комбінації плазмогеля і препарату гіалуронової кислоти.

Найбільш ефективною схемою лікування можна вважати комбіноване застосування плазмогеля з тромбоцитарної аутоплазми і препарату гіалуронової кислотою Hyadent BG на це вказує вірогідне підвищення індексу АПІ в другому терміні лікування.

На базі проведених експериментальних та клінічних досліджень, можна зробити висновок, що для довготривалого ефекту лікування генералізованого пародонтиту та регенерації комплексу пародонтальних тканин при застосуванні консервативних регенеративних методик найбільш вірогідний ефект показав комплекс препаратів плазмогелю, гіалуронової кислоти та ін'єкційне введення i-PRF, для підтримуючої терапії.

На основі отриманих результатів можна припустити, що важливою складовою регенерації є відновлення колагенових волокон періодонтальної зв'язки та активація мікроциркуляторного русла. За рахунок покращення кровопостачання, збільшується трофіка уражених тканин (рис.2). Плазмогель є аутологічним матеріалом, що дає можливість застосовувати його в вигляді каркасу для проростання фібробластів. Поглинаючи плазмогель, введений в пародонтальну кишеню в комбінації з гіалуроновою кислотою, клітини заміщують дефект тканин. Гіалуронова кислота в даному варіанті окрім покращення судинного русла виконує ще і бар'єрну функцію, стримуючи проникнення інфекційних агентів до пародонтальної кишені, збільшує

щільність тканин ясен. Цей комплекс запускає каскад реакцій в тканинах пародонта для відновлення структурних елементів, збільшення антиоксидантної активності, зменшення процесів хронічного запалення.

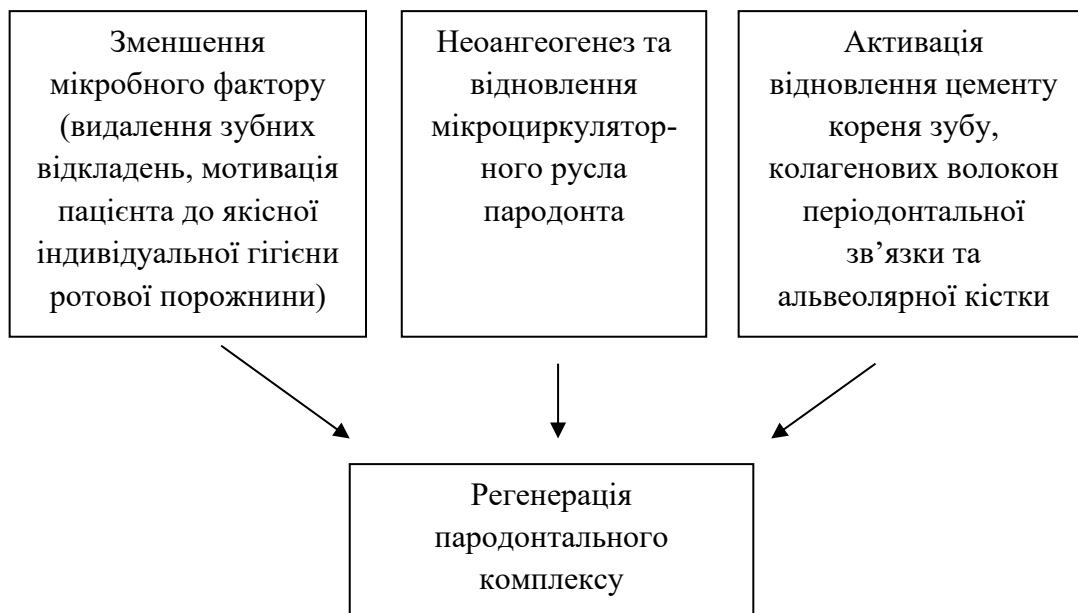


Рис. 2. Схема регенерації пародонтального комплексу.

При хірургічних методах лікування були використані в експериментальній частині амніотична мембрана, а в клініці колагенові мембрани, у яких внутрішній шар з метою активізації утворення клітин сполучної тканини оброблений факторами росту. Колагенова мембрана активізує остеобласти і в більшій мірі стимулює зростання кістки. Колагенова мембрана в комбінації з факторами росту та гіалуроновою кислотою дає великі можливості для відновлення кістки альвеолярного відростка, що підтверджується не тільки клінічно, але і морфологічно.

В клініці при застосуванні колагенової мембрани з PRP та препаратом гіалуронової кислоти більш прогнозованим є хірургічне втручання в зоні фуркацій та зменшується ризик виникнення післяопераційної рецесії тканин пародонта.

Отримані результати дозволяють зробити висновок про ефективність консервативної та хірургічної регенеративної терапії при лікуванні хворих на ХГП II-III ступеня важкості, яка сприяє ліквідації запалення в тканинах пародонта, нормалізації антиоксидантних процесів ротової порожнини і ферментативної активності ротової рідини, поліпшенню мікроциркуляції, зменшенню прогресування резорбції кісткової тканини, що призводить до тривалої стабілізації дистрофічно-запального процесу в пародонті.

Цей факт підтверджується позитивною динамікою клінічних показників в найближчі (1 місяць) і віддалені (через 12 і 24 місяців) терміни спостережень, біохімічних і функціональних показників після курсу лікування, що дозволяє рекомендувати регенеративні методики з комбінованим застосуванням препаратів аутоплазми та гіалуронової кислоти для впровадження в стоматологічну практику.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі представлено експериментально-клінічне обґрунтування і нове вирішення актуальної проблеми стоматології, яка полягає в підвищенні регенеративних можливостей при лікуванні хворих на генералізований пародонтит, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості шляхом розробки та застосування препаратів аутоплазми, володіючих високими регенеративними властивостями.

1. За даними ультразвукової доплерографії встановлено, що у хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу II-III ступеня важкості відмічається зниження лінійних показників кровотоку в мікросудинах пародонту $V_{as} = 0,407 \pm 0,020$ см/сек., $V_{am} = 0,0146 \pm 0,009$ см/сек., а після проведеного нами лікування з застосуванням плазмотерапії відмічалось покращення кровотоку, як через 1 рік та і через 2 роки і він складав $V_{as} = 1,217 \pm 0,035$ см/сек., $V_{am} = 0,0398 \pm 0,0030$.

2. Встановлено, що мікрогемодинамічні характеристики об'ємних швидкостей кровотоку у хворих при генералізованому пародонтиті II-III ступеня важкості до лікування мали мінімальні значення: $Q_{as} = 0,0141 \pm 0,0005$ мл/сек., $Q_{am} = 0,0007 \pm 0,00001$ мл/сек, а після проведеного нами лікування в групі контролю показник становив через 1 рік $Q_{as} = 0,0006 \pm 0,000$ мл/сек., через 2 роки $Q_{as} = 0,0005 \pm 0,00001$ мл/сек., в основній групі через 1 рік становив $0,0204 \pm 0,0030$ мл/сек., а через 2 роки $Q_{as} = 0,0109 \pm 0,0006$ мл/сек. В групі контролю Q_{am} через 1 рік $Q_{am} = 0,0006 \pm 0,000$ мл/сек., через 2 роки $Q_{am} = 0,0005 \pm 0,00001$ мл/сек., в основній групі показник через 1 рік становив $0,0204 \pm 0,0030$ мл/сек., а через 2 роки $Q_{am} = 0,0109 \pm 0,0006$ мл/сек.

3. Встановлено в експерименті на моделях пародонтиту, що при використанні комплексу плазмогелю та гіалуронової кислоти в тканинах ясен відмічається через три тижні вірогідне зниження малонового діальдегіду на 48,4 %, вірогідне підвищення активності каталази, зниження активності еластази, вірогідне підвищення індексу АПІ та підвищення вмісту гіалуронової

кислоти, яка приймає участь в утворенні міжклітинного матриксу та покращенню бар'єрної функції ясен.

4. Доведено, що при експериментальних моделях пародонтиту дворазове введення плазми, збагаченої тромбоцитами, призводить до активізації ремоделювання альвеолярного відростку, про що свідчить вірогідне зниження активності кислої та лужної фосфатаз в 2 рази, зниження ступеня атрофії альвеолярного відростка.

5. Морфологічні дослідження кісткової тканини верхньої щелепи свідчать, що використання ін'єкцій тромбоцитарної аутоплазми у тварин на «перекисній» моделі пародонтиту призводить до активного процесу репаративної регенерації сполученої тканини, активного процесу ремоделювання кісткової тканини, а через три тижні до повної регенерації тканин пародонту, відновлення структури сполученої тканини.

6. Встановлено, що візуально повне відновлення раньового дефекту слизової оболонки щурів при застосуванні децелюляризованої ліофілізованої амніотичної мембрани з плазмою, збагаченою тромбоцитарними факторами росту і гіалуроновою кислотою, відмічалось на 2 дні раніш ніж в контролі, а при оцінці реваскуляризації методом трансиллюмінації відмічалась добре розвинена мікроциркуляторна мережа новоутворених судин різного діаметра.

7. За рентгенологічними та морфологічними дослідженнями в експерименті встановлено, що застосування децелюляризованої ліофілізованої мембрани з амніону плаценти людини, аутоплазми з високим вмістом тромбоцитарних факторів росту і гелю з гіалуроновою кислотою для відновлення кісткового дефекту призводило до прискорення регенерації дефекту альвеолярного відростка по відношенню до контрольної групи.

8. Проведені клінічні дослідження свідчать, що застосування консервативних та хірургічних регенеративних методик призводить до покращення клінічних показників у пацієнтів з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості, а саме до зменшення глибини

пародонтальних кишень, зменшення глибини рецесії, зменшення втрати епітеліального прикріплення та рухливості зубів.

9. Проведені біохімічні дослідження дозволили зробити висновок, що при застосуванні різних препаратів аутоплазми та препарату гіалуронової кислоти у пацієнтів з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості найбільш ефективним виявився комплекс препаратів, який включав в себе плазмогель, гіалуронову кислоту та i-PRF про що свідчили збільшення активності каталази в 4,8 разів, зменшення активності еластази на 83,2 %, зниження вмісту малонового діальдегіду на 72,4 % через 2 роки відносно групи порівняння ($p_2 < 0,001$).

10. Встановлено, що при лікуванні осіб з генералізованим пародонтитом, хронічного перебігу, II-III ступеня важкості застосування комплексу з плазмогелю, гіалуронової кислоти та i-PRF в ротовій рідині призводило до збільшення вмісту гіалуронової кислоти через 1 місяць на 41,4 %, через 2 роки на 43,5 % на відміну від групи порівняння, де збільшення через 2 роки відбулося на 15,6 % ($p_2 < 0,001$), що свідчить про збільшення бар'єрної функції ясен в основній групі.

11. На підставі проведених експериментальних та клінічних досліджень, можна зробити висновок, що для довготривалого ефекту лікування генералізованого пародонтиту та регенерації комплексу пародонтальних тканин при застосуванні консервативних регенеративних методик найбільш вірогідний ефект показав комплекс препаратів плазмогелю, гіалуронової кислоти та ін'єкційне введення i-PRF, для підтримуючої терапії.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендується включення до комплексного лікування ХГП II-III ступеня важкості на консервативному етапі – регенеративних методик з використанням препарату плазмогель з тромбоцитарної аутоплазми, препарату гіалуронової кислоти hyaDENT BG та ін'єкційної форми аутоплазми i-PRF. На етапі хірургічного лікування використання плазми, збагаченої тромбоцитарними факторами росту PRP та препарату гіалуронової кислоти hyaDENT BG в комбінації з остеопластичним матеріалом та колагеновою мембраною для закриття кісткових дефектів.

2. При ХГП II-III ступеня важкості рекомендовано наступний алгоритм консервативної регенеративної методики: безін'єкційне введення плазмогелю з тромбоцитарної аутоплазми в пародонтальну кишеню за допомогою тупої голки 3 процедури з інтервалом кожні 7 днів, одноразова інстиляція препарату ГК і кожні 6 місяців у вигляді підтримуючої терапії ін'єкційне введення i-PRF за допомогою мезотерапевтичної голки G30 по перехідній складці в проекції верхівок коренів зубів, доза препарату близько 0,2 мл на кожне введення, 5 процедур з інтервалом кожні 7 днів.

3. При ХГП II-III ступеня важкості рекомендовано наступний алгоритм хірургічної регенеративної методики: після відшарування слизово-надокістних клаптів, дєпітелізації тканин, ревізії поверхні коренів та пародонтального дефекту ультразвуковим та ручним методами, поверхні оголених коренів рекомендовано обробити препаратом ПрефГель (Straumann, Швейцарія), після чого промити пародонтальний дефект фізіологічним розчином, кісткові дефекти заповнити остеопластичним матеріалом змішаним з препаратом гіалуронової кислоти hyaDENT BG, поверх пародонтального дефекту вкласти колагенову мембрану оброблену з обох поверхонь PRP та препаратом гіалуронової кислоти, після чого адаптували клапті на місце та виконували ушивання в міжзубному проміжку. В післяопераційному періоді рекомендована

щадна дієта, за необхідністю анальгетики, антисептична обробка ротової порожнини тричі на день розчином хлоргексидину 0,12 %. Зняття швів на 7-10 добу після хірургічного втручання.

4. Для індивідуального догляду за ротовою порожниною пацієнтам, які отримували в комплексному лікуванні регенеративні методики рекомендовано використання лікувально-профілактичного гігієнічного комплексу: зубної пасти GUM «ActiVital», зубної щітки TePe «Supreme», ополіскувача GUM «ActiVital», а також йоржиків для очищення міжзубних проміжків, підібраних за розміром.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Aimetti, M. Prevalence of periodontitis in an adult population from an urban area in North Italy: findings from a cross-sectional population-based epidemiological survey / M. Aimetti, S. Perotto, S. Castiglione [et al.] // Journal of clinical periodontology. – 2015. – Vol. 42, №7. – P. 622-631.
2. Schützhold, S. Changes in prevalence of periodontitis in two German population-based studies / S. Schutzhold, T. Kocher, R. Biffar [et al.] // Journal of clinical periodontology. – 2015. – Vol. 42, №2. – P. 121-130.
3. Eke, P.I. Update on prevalence of periodontitis in adults in the United States: NHANES 2009 to 2012 / P.I. Eke, L. Wei, W.S. Borgnakke, G.O. Thornton-Evans, X. Zhang [et al.] // Journal of periodontology. – 2015. – Vol. 86, №5. – P. 611-622.
4. Jiménez, M.C. Prevalence of periodontitis according to Hispanic or Latino background among study participants of the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos / M.C. Jiménez, A.E. Sanders, S.M. Mauriello, L.M. Kaste, J.D. Beck // The Journal of the American Dental Association. – 2014. – Vol. 145, №8. – P. 805-816.
5. Eke, P.I. Predicting periodontitis at state and local levels in the United States / P.I. Eke, B.A. Dye, L. Wei, G.O. Thornton-Evans, R.J. Genco // Journal of dental research. – 2016. – Vol. 95, №5. – P. 515-522.
6. Alagl, A.S. Ascorbic acid: New role of an age-old micronutrient in the management of periodontal disease in older adults/ A.S. Alagl, S.G. Bhat// Geriatr. Gerontol. Int. –2015.-№ 15.- P. 241–254. doi: 10.1111/ggi.12408.
7. Ardila, C. M. Clinical Factors Influencing the Efficacy of Systemic Moxifloxacin in the Therapy of Patients With Generalized Aggressive Periodontitis: A Multilevel Analysis From a Clinical Trial/C. M. Ardila, I. C. Guzmán// Glob. J. Health Sci. -2015. -Vol. 8, № 3. -P. 80-88. DOI: 10.5539/gjhs.v8n3p80.
8. Khan, S. Prevalence of chronic periodontitis in an obese population: a preliminary study / S. Khan, R. Saub, R.D. Vaithilingam et al. // BMC Oral Health. – 2015. – Vol.15. – p. 114.

9. Greenblatt, M.B. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease/ M.B. Greenblatt, J.N. Tsai, M.N. Wein // Clin Chem. – 2017 Feb. – vol. 63(2) . – pp. 464-474. Epub 2016 Dec 9.

10.König, J. Periodontal health in Europe: future trends based on treatment needs and the provision of periodontal services – position paper 1/ J. König, B. Holtfreter, T Kocher. //Eur J Dent Educ. – 2010. –vol. 14. –pp. 4–24

11. Kassebaum, N.J. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression/ N.J. Kassebaum, E. Bernabé, M. Dahiya, B. Bhandari, C.J. Murray, W. Marcenes // J Dent Res. –2014 Nov. – vol.93(11) . – pp.1045-53.

12. Васильева, Н.А. Характеристика местных факторов риска больных гингивитом / Н.А. Васильева, А.И. Булгакова // Стоматология для всех. –2016. – № 3. – С. 30–33.

13. Глазунов, О.А. Стоматологический статус мужчин зрелого и пожилого возраста с генерализованным пародонтитом / О.А. Глазунов, А.Е. Корнейчук // Вестник стоматологии. – 2016. – № 1(3). – С. 21–24.

14. Есаян, Л.К. Изучение распространенности поражения твердых тканей зубов и пародонта у больных с HIV-инфекцией / Л.К. Есаян, В.Ю. Азатян // Проблемы стоматологии. – 2018. – № 3(14). – С. 17–21.

15. N R McGregor Gingival crevicular fluid proteomes in health, gingivitis and chronic periodontitis/ A H S Huynh, P D Veith, N R McGregor , G G Adams, D Chen , E C Reynolds , L H Ngo , I B Darby // J Periodontal Res - 2015 Oct;50(5):637-49.

16. Highfield, J. Diagnosis and classification of periodontal disease/ J. Highfield // Aust Dent J. – 2009 Sep. – vol.54 Suppl 1. – pp.11-26.

17. 1999 International International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, October 30-November 2, 1999// Ann Periodontol. – 1999 Dec. – vol. 4(1):i. – pp. 1-112.

18. Levin, L. Aggressive periodontitis: the silent tooth killer/ L. Levin // Alpha Omegan. –2011. –Vol.104. – №3-4. –P. 74-78.

19. Вольф, Г.Ф. Пародонтология : руководство-атлас : пер. с нем. / Под ред. Г.М. Барера. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – С. 140-284.
20. Жданов, М.С. Пародонтит / М.С. Жданов, А.З. Мамедханов // Студенческий вестник. – 2018. – № 13-2(33). – С. 34–38.
21. Global burden of severe periodontitis in 1990–2010: A systematic review and meta-regression/ N.J. Kassebaum, E. Bernabé, M. Dahiya et al. // J. Dent. Res. - 2014.-№ 93.Р. 1045–1053. doi: 10.1177/0022034514552491.
22. Петрухина, Н.Б. Патогенетические особенности хронических воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с метаболическим синдромом, ассоциированных с дисбиозом пищеварительного тракта // Дисс.... д.м.н., М., ЦНИИС, 2017, 312 с.
23. Теблоева, Л.М., Гуревич К.Г. Факторы риска развития хронического генерализованного пародонтита // Институт стоматологии, 2014, № 2 (63), С. 54 - 57.
24. Sanz, M. European workshop in periodontal health and cardiovascular disease-scientific evidence on the association between periodontal and cardiovascular diseases: A review of the literature / M. Sanz, F. D’Aiuto, J. Deanfield, F. Fernandez-Avilés // Eur Heart J Suppl. – 2010. – vol.12(Suppl B). – pp. 3–12.
25. Силин, А.В. Анализ качества лечебно-профилактической помощи взрослому населению Санкт-Петербурга с заболеваниями тканей пародонта по программе обязательного медицинского страхования / А.В. Силин, В.Н. Филатов, Е.В. Леонова, О.А. Ризаханова // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2018. – № 1(10). – С. 72–80.
26. Димитрова, А.Г. Особенности планирования объема стоматологической помощи пациентам с генерализованным пародонтитом / А.Г. Димитрова // Современная стоматология. – 2017. – № 2. – С. 26–28.
27. Белоклицкая Г.Ф. Ведущие местные факторы риска в развитии воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста / Г.Ф.

Белоклицкая, К.О. Горголь // Стоматология. Эстетика. Инновации.- 2017.- Т.1.- №2.- С.203-214.

28. Субанова, А.А. Особенности эпидемиологии и патогенеза заболеваний пародонта (обзор литературы) / А.А. Субанова // Медицина. – 2015. – Т. 15, № 7. – С. 152–155.

29. Van der Velden U. Java project on periodontal diseases: causes of tooth loss in a cohort of untreated individuals / U. van der Velden, A. Amaliya, B.G. Loos, M.F. Timmerman, F.A. van der Weijden, E.G. Winkel // J Clin Periodontol. – 2015.- Vol. 42(9).- P. 824.

30. Биктимерова, О.О. Необходимость взрослого населения в лечении пародонтита и приверженность к его проведению / О.О. Биктимерова //Казанский медицинский журнал. – 2016. – № 5. – С. 723–726.

31. Игидбашян, В.М. Современные подходы к вопросам комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта / В.М. Игидбашян, Л.А. Зюлькина, М.Н. Суворова, Г.В. Емелина, и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 299.

32. Ипполитов Е.В. Особенности морфологии биопленки пародонта при воспалительных заболеваниях десен (хронический катаральный гингивит, хронический пародонтит, кандидассоциированный пародонтит) по данным электронной микроскопии / Е.В. Ипполитов, Л.В. Диденко, В.Н. Царев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60. № 12. – С. 59-64.

33. Зорина О.А. Количественная оценка соотношения патогенных представителей микробиоценоза полости рта в норме и при пародонтите / О.А. Зорина, А.А. Кулаков, Д.В. Дебриков // Стоматология. – 2011. – № 3. – С. 40-42

34. Копчак ОВ, Волінська ТБ. Мікробіоценоз пародонтальних карманів при генералізованому пародонтиті. Вісн. пробл. біології і медицини. 2017;(2):360-3.

35. Thurnheer T., Belibasakis G.N., Bostanci N. Colonisation of gingival epithelia by subgingival biofilms in vitro: role of "red complex" bacteria. Arch Oral Biol. 2014 Sep;59(9):977-86.

36. Царев В.Н. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта / В.Н. Царев. – Москва: Изд-во «ГЭОТАР-Медиа», 2013. – 572 с.

37. Hong, B. Y. Microbiome profiles in periodontitis in relation to host and disease characteristics / B.-Y. Hong, M.V. Furtado Araujo, L.D. Strausbaugh et al. // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10(5) . – p. e0127077.

38. Зорина О.А., Аймадинова Н.К., Борискина О.А., Басова А.А., Ребриков Д.В. Основные изменения нормальной микрофлоры пародонта при хроническом генерализованном пародонтите, выявленные с помощью метагеномного секвенирования. - Российская стоматология. 2017; 10(2):41-48.

39. Blasco-Baque V. Periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis* drives periodontal microbiota dysbiosis and insulin resistance via an impaired adaptive immune response / Garidou L., Pomie C., Escoula Q., et. al. // Gut. February, 2016, DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309897.

40. Immunoglobulin G antibodies against *Porphyromonas gingivalis* or *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in cardiovascular disease and periodontitis/ C. Damgaard, J. Reinholdt, C.J. Enevold et al. // Oral Microbiol. 2017.- № 9.- P. 1374154. doi: 10.1080/20002297.2017.1374154.

41. Belfield, L.A. Exposure to *Porphyromonas gingivalis* LPS during macrophage polarisation leads to diminished inflammatory cytokine production / L.A. Belfield, J.H. Bennett, W. Abate, S.K. Jackson // Arch Oral Biol., 2017 Sep, 81. – P. 41-47.

42. Hajishengallis, G. Periodontitis from microbial immune subversion to systemic inflammation / G. Hajishengallis // Nat. Rev. Immunol. – 2015.-№15.-P. 30–44. doi: 10.1038/nri3785.

43. Shi, B. Dynamic changes in the subgingival microbiome and their potential for diagnosis and prognosis of periodontitis. / B. Shi, M. Chang, J. Martin et al. // MBio. - 2015. - Vol.6 (1). - p. e01926-14.

44. Hajishengallis, G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation / G. Hajishengallis // Nature Reviews Immunology. – 2015. – Vol. 15, №1. – P. 30-44.

45. Cheng, W.C. Periodontitis associated pathogens *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* activate human CD14⁺ monocytes leading to enhanced Th17/IL17 responses / W.C. Cheng, S. van Asten, L.A. Burns [et al.] // *European Journal of Immunology*. – 2016. – Vol. 46, №9. – P. 2211-2221.

46. Baek, K. Complex intratissue microbiota forms biofilms in periodontal lesions/ K. Baek, S. Ji, Y. Choi // *J. Dent. Res.*-2018.- № 97.- P. 192– 200. doi: 10.1177/0022034517732754.

47. Curtis, M.A. Periodontal microbiology - the lid's off the box again/ M.A. Curtis // *J. Dent. Res.* -2014.- № 93.- P. 840–842. doi: 10.1177/0022034514542469.

48. Грудянов, А. И. Системные воспалительные маркеры как факторы прогрессирующего течения хронического генерализованного пародонтита у пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний / А. И. Грудянов, О. Н. Ткачева, Т. В. Авраимова, Н. Т. Хватова // *Пародонтология*. – 2015. – Т.20. – №3(76). – С. 37-41.

49. Sosroseno, W. The interleukin network in the immunopathogenesis of oral diseases / W. Sosroseno, E. Hezminajeng, S. Goeno // *Asian Pac. Allergy Immunol.* – 2016. – Vol. 12. – P. 161–168.

50. Suárez-López Del Amo, F. Biologic agents for periodontal regeneration and implant site development / F. Suárez-López Del Amo, A. Monje, M. Padial-Molina, Z. Tang // *Biomed. Res. Int.*, 2015, Vol. 10.– 5, p. 957518.

51. Araújo, A.A. Effect of telmisartan on levels of IL–1, TNF α , down-regulated COX– 2, MMP–2, MMP–9 and RANKL/RANK in an experimental periodontitis model. / A.A. Araújo, T.O. Souza, L.M. Moura et al. // *J. Clin. Periodontol.* – 2013. – Vol. 40(12). – P. 1104-1111. 149.

52. Araújo, A.A. Olmesartan decreases IL–1 β and TNF α levels; downregulates MMP– 2, MMP–9, COX–2, and RANKL; and upregulates OPG in experimental periodontitis. / A.A. Araújo, G. Lopes de Souza, T.O. Souza et al. // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 386(10). – P. 875-884. 150.

53. Araújo-Pérez, F. Differences in microbial signatures between rectal mucosal biopsies and rectal swabs / F. Araújo-Pérez, A.N. McCoy, C. Okechukwu et al. // Gut Microbes. – 2012. – Vol. 3(6). – P. 530-535.

54. Zeng, X.T. Meta-analysis of association between interleukin-1 β c-511t polymorphism and chronic periodontitis susceptibility / X.T. Zeng, D.Y. Liu, J.S. Kwong et al. // J. Periodontol. – 2015, Mar 5. – P. 1-1

55. Григорович Э.Ш. Особенности клинического течения хронического генерализованного пародонтита и полиморфизм генов ключевых воспалительных цитокинов IL-1B, IL-1RN, TNFA, IL-4. Уральский медицинский журнал. 2015; 6(129):36-32

56. Ганковская Л.В., Хелминская Н.М., Молчанова Е.А., Свитич О.А. Роль факторов врождённого иммунитета в патогенезе пародонтита. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016; 2:100-107.

57. Cortés-Vieyra R., Rosales C., Uribe-Querol E. Neutrophil Functions in Periodontal Homeostasis. - J Immunol Res. 2016;2016:1396106.

58. Jin Y., Wang L., Liu D., Lin X. Tamibarotene modulates the local immune response in experimental periodontitis. Int Immunopharmacol. 2014 Dec;23(2):537-45.

59. Fattori, E. Defective inflammatory response in IL-6-deficient mice / E. Fattori, M. Cappelletti, P. Costa // J. Exp. Med. – 2016. – Vol. 180. – P. 1243–1250.

60. Janoff, A. Neutrophil proteases in inflammation / A. Janoff // Ann. Rev. Med. – 2016. – Vol. 25. – P. 177–190.

61. Bae, W.J. HIF-2 inhibition suppresses inflammatory responses and osteoclastic differentiation in human periodontal ligament cells / W.J. Bae, M.R. Shin, S.K. Kang et al. // J. Cell Biochem. – 2015, Jan., 6.

62. Ujiie, Y. Interleukin-4 released from human gingival fibroblasts reduces osteoclastogenesis / Y. Ujiie, T. Karakida, Y. Yamakoshi, T. Ohshima, K. Gomi, S. Oida // Arch Oral Biol., 2016, Dec, 72, 187-193.

63. The complement system and its role in the pathogenesis of periodontitis: Current concepts/ C. Damgaard, P. Holmstrup, T.E. Van Dyke, C.H. Nielsen // J. Periodontal Res.- 2015.- № 50.-P. 283–293. doi: 10.1111/jre.12209.

64. Napimoga M.H. Expression of secreted osteoclastogenic factor of activated T cells (SOFAT) by T-and B-lineage cells may contribute significantly to bone loss in periodontitis / M.H. Napimoga, B.B. Benatti, F.O. Lima // The Journal of Immunology. – 2014. – Vol. 192, №1. – P. 115

65. The induction expression of human β -defensins in gingival epithelial cells and fibroblasts/ J. Liu, X. Du, J. Chen et al. // Arch. Oral Biol. -2013.- №58.- P. 1415–1421. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.04.013.

66. Ушаков Р.В. Механизмы тканевой деструкции при пародонтите / Р.В. Ушаков, Т.П. Герасимова // Стоматология. – 2017. – № 4. – С. 63-66

67. Han, Y.W. *Fusobacterium nucleatum*: A commensal-turned pathogen/ Y.W. Han // Curr. Opin. Microbiol. – 2015.-№ 23.-P. 141–147. doi: 10.1016/j.mib.2014.11.013.

68. Generalized aggressive periodontitis: microbiological composition and clinical parameters in non-surgical therapy/M. M. Usin, S. M. Tabares, J. Menso et al. //Acta Odontol. Latinoam. -2016. -Vol. 29, № 3. -P. 255-261.

69. Hajishengallis, G. The inflammophilic character of the periodontitisassociated microbiota/ G. Hajishengallis // Mol. Oral Microbiol.- 2014.- № 29.- P. 248–257. doi: 10.1111/omi.12065.

70. Periodontal health and oral microbiota in patients with rheumatoid arthritis/ K. Eriksson, G. Fei, A. Lundmark, D. Benchimol et al. // J. Clin. Med. - 2019.- №8.- P. 630. doi: 10.3390/jcm8050630.

71. Human neutrophil defensins and their effect on epithelial cells/ U.K. Gursoy, E. Könönen, N. Luukkonen, V.J. Uitto // J. Periodontol.- 2013.-№ 84.- P. 126–133. doi: 10.1902/jop.2012.120017.

72. Parkos, C.A. Neutrophil-epithelial interactions: A double-edged sword/ C.A. Parkos // Am. J. Pathol. – 2016.-№ 186.-P. 1404–1416. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.02.001.

73. Parkos, C.A. Neutrophil-epithelial interactions: A double-edged sword/ C.A. Parkos // *Am. J. Pathol.* – 2016.-№ 186.-P. 1404–1416. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.02.001.

74. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease/ M. Sanz, D. Beighton, M.A. Curtis et al. // *J. Clin. Periodontol.*- 2017.-№ 44(Suppl. 18).-P. 5–11. doi: 10.1111/jcpe.12682.

75. Фік, В.Б. Морфологія тканин пародонта щурів при шеститижневій дії опію/ В.Б. Фік // *Світ медицини та біології.*- 2018.- № 4 (66).- С. 218-222.

76. Wade, W.G. The oral microbiome in health and disease/ W.G. Wade // *Pharmacol. Res.*- 2013.-№ 69.-P. 137–143. doi: 10.1016/j.phrs.2012.11.006.

77. Бурхонова, Н.Д. К вопросу заболевания пародонта/ Н.Д. Бурхонова // *Мировая наука.* -2019.- № 4 (25).- С. 217-220.

78. Бутюгин, И.А. Клинико–иммунологическая характеристика пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом / И.А. Бутюгин, И.И. Долгушин, Г.И. Ронь // *Уральский медицинский журнал.* – 2014. – №05(119). – С. 34.

79. Silva N, Abusleme L, Bravo D, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Vernal R, Hernández M, Gamonal J Host response mechanisms in periodontal diseases // *J Appl Oral Sci.* 2015 May-Jun;23(3):329-55.

80. Andre, J. Lichen planus: etiopathogenesis / J. Andre, M. Laporte, P. Delavault // *Acta Stomat. Belg.* – 2016. – Vol. 87. – P. 229–231.

81. Robertson, W.D. Immunohistochemical study of oral keratoses including lichen planus / W.D. Robertson, D. Wray // *J. Oral Pathol. Med.* –2015. – Vol. 22 (4). – P. 180–182.

82. Robertson, W.D. Immunohistochemical study of oral keratoses including lichen planus / W.D. Robertson, D. Wray // *J. Oral Pathol. Med.* –2015. – Vol. 22 (4). – P. 180.

83. Oral microbial biofilm stimulation of epithelial cell responses/ R. Peyyala, S.S. Kirakodu, K.F. Novak, J.L. Ebersole // Cytokine. – 2012.-№ 58.- P. 65–72. doi: 10.1016/j.cyto.2011.12.016.

84. Мазур І.П. Превенція неінфекційних захворювань і роль стоматолога/Мазур І.П.//Здоров'я України. – 2018. - №15-16(436-437) – с.24-25.

85. Попович І.Ю, Петрушанко Т.О. Можливості лікування пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом. Вісник стоматології. 2020;36(2):27-33.

86. Muhammad, A.N. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention / A.N. Muhammad //International Journal of Healyh Science. -2017. -№11(2). -P. 72-80.

87. Костригина Е.Д. Современный взгляд на этиопатогенез пародонтита (обзор литературы)/ Костригина Е.Д., Зюлькина Л.А., Иванов П.В.// Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. -2017.- № 3 (43).- С. 118-128.

88. Дроздова, Г.А. Молекулярные основы применения антиоксидантов при хроническом пародонтите / Г.А. Дроздова, Т.Е. Тарасова, А.Г. Захаркин, Т.В. Ганич, В.Ф. Мустяца // Здоровье и образование в XXI веке. – 2012. – Т. 14, №4. – С. 518-519.

89. Изменение иммунологической реактивности и функционирование тиоловой системы антиоксидантной защиты на локальном и системном уровне при хроническом пародонтите и коморбидной патологии/ А.Р. Горкунова, И.М. Быков, А.А. Басов, Н.В. Лапина // Аллергология и иммунология.- 2014.-№15 (3). –С. 186-190.

90. Ланг, Н.П. Здоровый пародонт/ Н.П. Ланг, М.П. Бартольд // Пародонтология.- 2019.- Т. 24.- № 2.- С. 187-192.

91. Улитовский, С.Б. Проблемы пародонтологии и современные пути их решения/ С.Б. Улитовский, Е.С. Алексеева, А.А. Васянина // Пародонтология. - 2015.- Т. 20.- № 3 (76).- С. 33-36

92. Baek, K. Complex intratissue microbiota forms biofilms in periodontal lesions/ K. Baek, S. Ji, Y. Choi // J. Dent. Res.-2018.- № 97.- P. 192– 200. doi: 10.1177/0022034517732754.
93. Biomarkers of periodontitis and inflammation in ischemic stroke: A case-control study/ F. Palm, L. Lahdentausta, T. Sorsa et al. // Innate Immun. – 2014.-№ 20.- P. 511–518. doi: 10.1177/1753425913501214.
94. Dendritic cells and their role in periodontal disease/ A. Wilensky, H. Segev, G. Mizraji et al. // Oral Dis. – 2014.- № 20.- P. 119–126. doi: 10.1111/odi.12122
95. Distinct oral neutrophil subsets define health and periodontal disease states/ N. Fine, S. Hassanpour, A. Borenstein et al. // J. Dent. Res.- 2016.- № 95.- P. 931–938. doi: 10.1177/0022034516645564.
96. Finley, J.W. The nutraceutical revolution: Emerging vision or broken dream? Understanding scientific and regulatory concerns/ J.W. Finley // Clin. Res. Regul. Aff.- 2016.-№33.-P.1–3. doi: 10.3109/10601333.2016.1117096.
97. Boşca, A.B. Role of nitro–oxidative stress in the pathogenesis of experimental rat periodontitis. / A.B. Boşca, V. Miclăuș, A. Ilea et al. // Clujul. Med. – 2016. – Vol. 89(1). – P.150-159.
98. Chen, C., Pore N., Behrooz A. et al. Regulation of mRNA by hypoxia-inducible factor. 1. Interaction between H-ras and hypoxia // J. Biol. Chem., 2001, Vol. 276, P. 9519 – 9525.
99. Dalai, C. Correlation between histopathological aspects of periodontitis and biochemical changes of oxidative stress / C. Dalai, I. Ignat–Romanul, E. Roșca et al. // Rom. J. Morphol. Embryol. – 2013. – Vol.54 (3). – P. 817-822.
100. El-Shinnawi, U. Actions of adjunctive nutritional antioxidants in periodontitis and prevalent systemic inflammatory diseases / U. El-Shinnawi, M. Soory // Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets. - 2015. - Vol.15(4). - P. 261-276.

101. Trivedi, S. Association of salivary lipid peroxidation levels, antioxidant enzymes, and chronic periodontitis / S. Trivedi, N. Lal, A.A. Mahdi et al. // *Int. J. Periodont. Restor. Dent.* – 2015. – Vol. 35 (2). – P. e14-19.
102. Zare J.A. Impact of a customized dietary intervention on antioxidant status, dietary intakes and periodontal indices in patients with adult periodontitis / J.A. Zare, C.J. Seal, P. Heasman, P.J. Moynihan // *J. Hum. Nutr. Diet.*, 2014, Dec, 27(6). – P. 523-532.
103. Zhiqiang, L. Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: A metaanalysis / L. Zhiqiang L. Yan, S. Yiqing et al. // *Dis. Markers.* – 2014. - Vol.2014. – P. 931083.
104. Dalai, C. Correlation between histopathological aspects of periodontitis and biochemical changes of oxidative stress / C. Dalai, I. Ignat–Romanul, E. Roşca et al. // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2013. – Vol.54 (3). – P. 817-822.
105. Nizam, N. The effect of α -tocopherol and selenium on human gingival fibroblasts and periodontal ligament fibroblasts in vitro. / N. Nizam, F. Discioglu, I. Saygun et al. // *J. Periodontol.* – 2014. – Vol.85. – P.636-644.
106. de Pablo, P. Antibodies against uncitrullinated peptides seem to occur prior to the antibodies to the corresponding citrullinated peptides' by Brink et al / P. de Pablo, T. Dietrich, I. Chapple [et al.] // *Annals of the rheumatic diseases.* – 2014. – Vol. 73, №7. – P. 47.
107. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. М: Медицинское информационное агентство, 2009; 331 с.: ил.
108. Golz L. LPS from *P.gingivalis* and hypoxia increases oxidative stress in periodontal ligament fibroblasts and contributes to periodontitis / L. Golz, S. Memmert, B. Rath Deschner et al. // *Mediators Inflamm.* – 2014. – № 10. – P. 1-13.
109. D'Aiuto F. Oxidative stress, systemic inflammation and severe periodontitis / F. D'Aiuto, L. Nibali, M. Parkar et al. // *J. Dent. Res.* – 2010. – Vol. 89, № 11. – P. 1241-1246.
110. Scott D.A. Neutrophils in periodontal inflammation / D.A. Scott, J.L. Krauss // *Front. Oral. Biol.* – 2012. – № 15. – P. 56-83.

111. Усманова, И.Н. Влияние микрофлоры полости рта на состояние микроциркуляции тканей пародонта / И.Н. Усманова, М.А.М. Аль-Кофиш, А.И. Лебедева, Р.Ф. Хуснаризанова, И.Р. Усманов // Уральский медицинский журнал, 2017, № 7, С. 31- 35.

112. Yamamoto, Y. Intermittent local periodontal inflammation causes endothelial dysfunction of the systemic artery via increased levels of hydrogen peroxide concomitantly with overexpression of superoxide dismutase / Y. Yamamoto, T. Saito, G.G. Feng et al. // Int. J. Cardiol. – 2016. – Vol.222. – P. 901-907.

113. Коротина О.Л. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции / О.Л. Коротина, И.И. Генералов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 4. – С. 23-32

114. Fung, J.C. Microcirculation: mechanics of a blood flow in capillaries / J.C. Fung, B.W. Zweifach // Ann. Rev. Fluid Mech. – 1971. – V. 3. – P. 189-210.

115. Дзгоева, М.Г. Функциональное состояние пародонта при нарушениях системной гемодинамики : автореф. : дис. ... докт. мед. наук : 14.01.14 / М.Г. Дзгоева. – Владикавказ, 2009. – 41 с

116. Доменюк, Д.А. Особенности микроциркуляции в тканях десны у пациентов с краудингом резцов / Д.А. Доменюк и [и др.] // Фармация и фармакология. – 2015. – Т. 3. – № 2. – С. 44-51.

117. Csempesz, F. Blood flow measurements in human oral tissues with laser Doppler flowmetry / F. Csempesz [et al.] // Fogorv. Szemle. – 2000. – V. 93. – № 4. – P. 115-120.

118. Денисова Ю.Л. Новые возможности диагностики капиллярного давления пародонта // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – № 1 (150). – С. 43-49.

119. Ермак В.Ю., Олесова В.Н., Парилов В.В. [и др.]. Изменения микроциркуляции в тканях пародонта на этапах ортопедического лечения больных с патологией пародонта // Российский стоматологический журнал. – 2009. – № 3. – С. 33-35.

120. Понукалина Е.В., Булкина Н.В., Карпенко И.Н. О роли нарушений сосудистотромбоцитарного механизма гемостаза в патогенезе микроциркуляторных расстройств при быстро прогрессирующем пародонтите // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2008. – № 1 (19). – С. 52-54.

121. Петрухина, Н.Б. Результаты исследования биохимического, антиоксидантного и провоспалительного статусов до и после лечения хронического генерализованного пародонтита у пациентов с метаболическим синдромом / Н.Б. Петрухина, О.А. Зорина, И.М. Рабинович, А.М. Шилов, А.М. Молчанов // Фарматека. – 2015. – №S2. – 15. С. 28– 34.

122. Baltacioğlu, E. Total oxidant status and bone resorption biomarkers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis / E. Baltacioğlu, M.A. Kehribar, P. Yuva et al. // J. Periodontol. – 2014. – Vol.85(2). – P. 317-326.

123. Baser, U. Plasma and salivary total antioxidant capacity in healthy controls compared with aggressive and chronic periodontitis patients / U .Baser, H. Gamsiz-Isik, E .Cifcibasi, E. Ademoglu, F. Yalcin // Saudi Med. J., 2015 Jul, 36(7). – P. 856-861.

124. Lira-Junior, R. Severe chronic periodontitis is associated with endothelial and microvascular dysfunctions: a pilot study / R. Lira-Junior, C.M. Figueredo, E. Bouskela et al. // J. Periodontol. - 2014. - Vol. 85(12). - P.1648- 657.

125. Muniz, F.W.M.G. The impact of antioxidant agents complimentary to periodontal therapy on oxidative stress and periodontal outcomes: A systematic review / F.W.M.G. Muniz, S.B. Nogueira, F.L.V. Mendes et al. // Arch. Oral Biol. – 2015. – Vol. 60. – P. 1203-1214.

126. Alvarez Echazú M.I., Olivetti C.E., Anesini C., Perez C.J., Alvarez G.S., Desimone M.F. Development and evaluation of thymol-chitosan hydrogels with antimicrobial-antioxidant activity for oral local delivery. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2017 Dec 1;81:588-596.

127. Chauhan, A. Correlation of serum and salivary cytokines level with clinical parameters in metabolic syndrome with periodontitis / A. Chauhan, S.S. Yadav, P. Dwivedi et al. // J. Clin. Lab. Anal. – 2016, Feb, 22.

128. Chauhan, A. Correlation of serum and salivary cytokines level with clinical parameters in metabolic syndrome with periodontitis / A. Chauhan, S.S. Yadav, P. Dwivedi, N. Lal, K. Usman, S. Khattri // J. Clin. Lab. Anal., 2016 Sep, 30(5). – P. 649-655.

129. Li X., Wang X., Zheng M., Luan Q.X. Mitochondrial reactive oxygen species mediate the lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory response in human gingival fibroblasts. - Exp Cell Res. 2016 Sep 10;347(1):212-21.

130. Lamont R.J. Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease / R.J. Lamont, G. Hajishengallis // Trends Mol. Med. – 2015. – Vol. 21, № 3 – P. 172-183

131. Hasturk H. Paradigm shift in the pharmacological management of periodontal diseases / H. Hasturk, A. Kantarci, T.E. Van Dyke // Front. Oral. Biol. – 2012. – № 15. – P. 160-176

132. Булкина, Н.В. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта, особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита / Н.В. Булкина, В.М. Моргунова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2. – С. 415-420.

133. Periodontal pathogen carriage, rather than periodontitis, determines the serum antibody levels/ P.J. Pussinen, E. Könönen, S. Paju et al. // J. Clin. Periodontol.- 2011.-№ 38.- P. 405–411. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01703.x.

134. Meyle J., Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. Periodontol 2000. 2015 Oct;69(1):7-17. doi: 10.1111/prd.12104.

135. The natural history of periodontal attachment loss during the third and fourth decades of life/ W.M. Thomson, D.M. Shearer, J.M. Broadbent et al. // J. Clin. Periodontol. -2013.-№40.P. 672–680. doi: 10.1111/jcpe.12108.

136. Impact of metronidazole and amoxicillin combination on matrix metalloproteinases-1 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases balance in generalized aggressive periodontitis/E. Cifcibasi, A. Kantarci, S. Badur, H. Issever, S. Cintan//Eur J Dent. -2015. -Vol. 9, № 1. -P. 53-59. DOI: 10.4103/1305-7456.149642.

137. Oral microbial biofilm stimulation of epithelial cell responses/ R. Peyyala, S.S. Kirakodu, K.F. Novak, J.L. Ebersole // *Cytokine*. – 2012.-№ 58.- P. 65–72. doi: 10.1016/j.cyto.2011.12.016.

138. Periodontal disease and the oral microbiota in new-onset rheumatoid arthritis/ J.U. Scher, C. Ubeda, M. Equinda et al. // *Arthritis Rheum*. -2012.-№ 64.- P. 3083–3094. doi: 10.1002/art.34539.

139. Абдулахова, Д.А. Лечение хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести с применением диплена с линкомицином в сочетании с имунориксом / Д.А. Абдулахова, М.П. Порфириадис // *Новое в теории и практике*. – 2016. – С. 15–18.

140. Цепов, Л.М. Современные подходы к лечению воспалительных генерализованных заболеваний пародонта (обзор литературы) / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Д.А. Наконечный, М.М. Нестерова // *Пародонтология*. – 2015. - № 2(75). – С. 3-9

141. Царев, В.Н. Проблема устойчивости возбудителей одонтогенной инфекции к антибиотикам и разработка экспресс-метода выявления резистентных штаммов / В.Н. Царев, А.А. Лабазанов, Е.В. Ипполитов, В.В. Шулаков, Е.П. Пашков // *Клиническая стоматология*, 2016, № 4 (80), С. 46-51

142. Попова А.Е. Применение фотодинамической терапии в комплексном лечении хронического пародонтита / А.Е. Попова, Н.И. Крихели // *Рос стоматология*. – 2012. – 5(2). – С. 31-37

143. Дорошина Н.Б. Характеристика микробиоценоза пародонтальных карманов у больных с хроническим генерализованным пародонтитом. / Н.Б. Дорошина, Б.Я. Усвятцов, Д.Р. Кушкинбаева и др. // *Стоматология*. – 2011. – № 3. – С. 43-46

144. López NJ, Quintero A, Casanova PA, Ibieta CI, Baelum V, López R. Effects of periodontal therapy on systemic markers of inflammation in patients with metabolic syndrome: a controlled clinical trial. *J Periodontol*. 2012 Mar;83(3):267-78. doi: 10.1902/jop.2011.110227.

145. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств / под ред. академика РАН А.Г. Чучалина. – М.: 2018. – № 20. Стоматология – 242 с.
146. Пинелис Ю. Комплексная терапия хронического пародонтита у пожилых. *Врач*. 2016;(6):69-71.
147. Hanssler F, Salenbauch N. Пародонтология как основа концепции лечения. *Новое в стоматологии*. 2015;(4):20-9.
148. Holmlund A, Lampa E, Lind L. Poor response to periodontal treatment may predict future cardiovascular disease. *J Dent Res*. 2017 Jul;96(7):768-773. doi: 10.1177/0022034517701901.
149. Cochran D.L., Cobb C.M., Bashutski J.D., Chun Y.P., Lin Z., Mandelaris G.A., McAllister B.S., Murakami S., Rios H. F. Emerging Regenerative Approaches for Periodontal Reconstruction: A Consensus Report From the AAP Regeneration Workshop.- *Journal of Periodontology*.-February 2015, Vol. 86, No. 2-s, P. S153-S156.
150. Грудянов А.И. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта / А.И. Грудянов, Е.В. Фоменко. – М., Изд-во Мед. Информац. Агентство, 2010. – 89 с.
151. Цепов, Л.М. Консервативные методы в профилактике и комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы) / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Д.А. Наконечный, М.М. Нестерова // *Пародонтология*. – 2015. – № 1(74). – С. 7-9.
152. Цепов, Л.М. Вторичная профилактика в клиническом ведении пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта: учебное пособие / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Е.В. Петрова, Л.Б. Тургенева, Н.С. Левченкова, М.М. Нестерова, Д.А. Наконечный, Н.С. Орехова, Т.Е. Щербакова // Смоленск: СГМУ, 2015. – 46 с.
153. Цепов, Л. М. Микробные биопленки и хронические воспалительные заболевания пародонта / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Д.А. Наконечный, М.М. Нестерова // *Пародонтология*. – 2015. – Т.20. – 3. –С. 3-6.

154. Гаранина, Т.С. Роль средств индивидуальной гигиены полости рта в лечение генерализованного пародонтита / Т.С. Гаранина // Молодой ученый. – 2014. – № 3. – С. 155–157.

155. Вырмаскин, С.И. Хирургическое лечение пародонтита у больных сахарным диабетом с применением лазеров / С.И. Вырмаскин, Д.А Трунин, М.С. Чистякова // Медицинский альманах. – 2015. – № 3. – С. 157–159.

156. Сашкина, Т.И. Патогенетические основы неполной регенерации при хроническом генерализованном пародонтите // Дисс. д.б.н., М, РНИМУ, 2017, 206 с.

157. Suárez-López Del Amo, F. Biologic agents for periodontal regeneration and implant site development / F. Suárez-López Del Amo, A. Monje, M. Padial-Molina, Z. Tang // Biomed. Res. Int., 2015, Vol. 10.– 5, p. 957518.

158. Yamada, Y. Papilla regeneration by injectable stem cell therapy with regenerative medicine: long-term clinical prognosis / Y. Yamada, S. Nakamura, M. Ueda, K. Ito // J. Tissue Eng. Regen. Med., 2015, Mar, 9(3). – P. 305-309.

159. Цыганова И. В. Комплексное лечение больных генерализованным пародонтитом с применением метода направленной регенерации альвеолярного отростка / И. В. Цыганова, В. Ф. Куцевляк, В. И. Куцевляк // Вісник стоматології. - 2015. - № 3. - С. 37-40

160. Souza, S.L. Differences in collagen distribution of healthy and regenerated periodontium. Histomorphometric study in dogs / S.L. Souza, G.O. Macedo, E. Silveira, A.M. Souza, M. Taba Jr, A.B. Novaes Jr, C. Oliver, M.C. Jamur, V.M. Correa // Histol Histopathol. – 2013 Oct. – vol. 28(10) . – pp. 1315-24

161. Thrivikraman, G. Biomaterials for Craniofacial Bone Regeneration / G. Thrivikraman, A. Athirasala, C. Twohig, S.K. Boda, L.E. Bertassoni // Dent Clin North Am. – 2017 Oct. – vol. 61(4) . – pp. 835-856

162. Xu, A.T. The optimization of sintering treatment on bovine-derived bone grafts for bone regeneration: in vitro and in vivo evaluation/ A.T. Xu, W.T. Qi, M.N. Lin, Y.H. Zhu, F.M. He // J. Biomed Mater Res B Appl Biomater. – 2019 Apr 23. doi: 10.1002/jbm.b.34387. [Epub ahead of print]

163. Cai X., Yang F., Walboomers X.F., Wang Y., Jansen J.A., van den Beucken J.P., Plachokova A.3. Periodontal regeneration via chemoattractive constructs.- J Clin Periodontol. 2018 Jul;45(7):851-860.
164. Cho Y.D., Kim K.H., Ryoo H.M., Lee Y.M., Ku Y., Seol Y.J. Recent advances of useful cell sources in the periodontal regeneration. -Curr Stem Cell Res Ther. 2018 Aug 15.
165. Dabra S., Chhina K., Soni N., Bhatnagar R. Tissue engineering in periodontal regeneration: A brief review.-DentResJ (Isfahan). 2012 Nov;9(6):671-80.
166. Du J1, Li M2. Functions of Periostin in dental tissues and its role in periodontal tissues' regeneration. Cell Mol Life Sci. 2017 Dec;74(23):4279-4286.
167. Guazzo R., Gardin C., Bellin G., Sbricoli L., Ferroni L., Ludovichetti F.S., Piattelli A., Antoniac I., Bressan E., Zavan B. Graphene-Based Nanomaterials for Tissue Engineering in the Dental Field.- Nanomaterials (Basel). 2018 May 20;8(5). pii: E349.
168. Iwata T., Yamato M., Ishikawa I., Ando T., Okano T. Tissue engineering in periodontal tissue.-Anat .Rec. (Hoboken). 2014.- Jan;297(1):16-25.
169. Shue L., Yufeng Z., Mony U. Biomaterials for periodontal regeneration: a review of ceramics and polymers.- Biomatter. 2012 Oct-Dec;2(4):271-7.
170. Tansriratanawong K., Wongwan P., Ishikawa H., Nakahara T., Wongravee K. Cellular responses of periodontal ligament stem cells to a novel synthesized form of calcium hydrogen phosphate with a hydroxyapatite-like surface for periodontal tissue engineering.- J Oral Sci. 2018 Aug 12
171. Wang Y., Papagerakis S., Faulk D., Badylak S.F., Zhao Y., Ge L., Qin M., Papagerakis P. Extracellular Matrix Membrane Induces Cementoblastic/Osteogenic Properties of Human Periodontal Ligament Stem Cells.- Front Physiol. 2018 Jul 18;9:942.
172. Yan B., Wei K., Hou L., Dai T., Gu Y., Qiu X., Chen J., Feng Y., Cheng H., Yu Z., Zhang Y., Zhang H., Li D. Receptor-Interacting Protein 3/Caspase-8 May Regulate Inflammatory Response and Promote Tissue Regeneration in the Periodontal Microenvironment.- Med Sci Monit. 2018 Jul 29;24:5247-5257.

173. Cai X., Yang F., Walboomers X.F., Wang Y., Jansen J.A., van den Beucken J.P., Plachokova A.3. Periodontal regeneration via chemoattractive constructs.- *J Clin Periodontol*. 2018 Jul;45(7):851-860.

174. Cochran D.L., Cobb C.M., Bashutski J.D., Chun Y.P., Lin Z., Mandelaris G.A., McAllister B.S., Murakami S., Rios H. F. Emerging Regenerative Approaches for Periodontal Reconstruction: A Consensus Report From the AAP Regeneration Workshop.- *Journal of Periodontology*.-February 2015, Vol. 86, No. 2-s, P. S153-S156

175. Aida Y., Kurihara H., Kato K. Wnt3a promotes differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells into cementoblast-like cells.- *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2018 Jun;54(6):468-476.

176. Chen F.M., An Y., Zhang R., Zhang M. New insights into and novel applications of release technology for periodontal reconstructive therapies. *J Control Release* 2011;149:92-110.

177. Chen F.M., Gao L.N., Tian B.M., Zhang X.Y., Zhang Y.J., Dong G.Y., Lu H., Chu Q., Xu J., Yu Y., Wu R.X., Yin Y., Shi S., Jin Y. Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial.-*Stem Cell Res Ther*. 2016 Feb 19;7:33.

178. Chen F.M. Periodontal tissue engineering and regeneration. - *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2017 Oct 9;52(10):610-614. PadialMolina M., Marchesan J.T., Taut A.D., Jin Q., Giannobile W.V., Rios H. F. Methods to validate tooth-supporting regenerative therapies. *Methods Mol Biol* 2012;887:135-148.

179. Shuai Y., Ma Y., Guo T., Zhang L., Yang R., Qi M., Liu W., Jin Y. Dental Stem Cells and Tooth Regeneration. - *Adv Exp Med Biol*.- 2018.- Jul 27

Wu S., Xiao Z., Song J., Li M., Li W. Evaluation of BMP-2 Enhances the Osteoblast Differentiation of Human Amnion Mesenchymal Stem Cells Seeded on Nano-Hydroxyapatite/Collagen/Poly(l-Lactide).- *Int J Mol Sci*. 2018 Jul 25;19(8). pii: E2171

180. Yang X.T., Yang B., Tian W.D. Development of new technology in periodontal tissue engineering.- *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2018 Jul 9;53(7):490-494.

181. Rios H.F., Lin Z., Oh B., Park C.H., Giannobile W.V. Cell- and gene-based therapeutic strategies for periodontal regenerative medicine. *JPeriodontol* 2011;82:1223-1237.

182. Doğan G.E., Aksoy H., Demir T., Laloğlu E., Özyıldırım E., Sağlam E., Akçay F. Clinical and biochemical comparison of guided tissue regeneration versus guided tissue regeneration plus low-level laser therapy in the treatment of class II furcation defects: A clinical study. *J Cosmet Laser Ther*. 2016;18(2):98-104.

183. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004 Apr;62(4):489-96.

184. Михаэль Клар, Н. Алешин. Гиалуроновая кислота – биологическая сила в стоматологии // *Стоматолог Инфо*. – 02.2012. – С. 20–24

185. Рахматуллина Л.Р. Разработка клеточных биоматриц на основе гиалуроновой кислоты / Л.Р. Рахматуллина, Е.С. Барышева, Р.Р. Рахматуллина // *Современные наукоемкие технологии*. – 2010. – № 2. – С. 111-112.

186. Webber, M.J. A perspective on the clinical translation of scaffolds for tissue engineering / M.J. Webber, O.F. Khan, S.A. Sydlik, B.C. Tang, R. Langer // *Ann Biomed Eng*. – 2015 Mar. – vol. 43(3) . – pp. 641-56

187. Verdugo F, D’Addona A. Long-term stable periodontal regeneration by means of autologous bone grafting in patients with severe periodontitis. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2012 Apr;32(2):157-64.

188. Sunandhakumari V.J., Vidhyadharan A.K., Alim A., Kumar D., Ravindran J., Krishna A., Prasad M. Fabrication and In Vitro Characterization of Bioactive Glass/Nano Hydroxyapatite Reinforced Electrospun Poly(ϵ -Caprolactone) Composite Membranes for Guided Tissue Regeneration.- *Bioengineering (Basel)*. 2018 Jul 15;5(3). pii: E54.

189. Claar M. Гиалуроновая кислота в имплантологии. Перспективный материал для улучшения результатов лечения / М. Claar // Новое в стоматологии. – 2015. – № 1. – С. 20-24.

190. da Silva M.A., Oliveira R.N., Mendonça R.H., Lourenço T.G., Colombo A.P., Tanaka M.N., Tude E.M., da Costa M.F., Thiré R.M.. Evaluation of metronidazole-loaded poly(3-hydroxybutyrate) membranes to potential application in periodontitis treatment.- J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2016 Jan;104(1):106-15.

191. Kawamoto K., Miyaji H., Nishida E., Miyata S., Kato A., Tateyama A1, Furihata T., Shitomi K., Iwanaga T., Sugaya T. Characterization and evaluation of graphene oxide scaffold for periodontal wound healing of class II furcation defects in dog.- Int J Nanomedicine. 2018 Apr 18;13:2365-2376.

192. Münchow E.A., Albuquerque M.T., Zero B., Kamocki K., Piva E., Gregory R.L., Bottino M.C. Development and characterization of novel ZnO-loaded electrospun membranes for periodontal regeneration. - Dent Mater. 2015 Sep;31(9):1038-51.

193. Qasim S.B., Delaine-Smith R.M., Fey T., Rawlinson A., Rehman I.U. Freeze gelated porous membranes for periodontal tissue regeneration.- Acta Biomater. 2015 Sep;23:317-28.

194. Qasim S.B., Najeeb S., Delaine-Smith R.M., Rawlinson A., Ur Rehman I. Potential of electrospun chitosan fibers as a surface layer in functionally graded GTR membrane for periodontal regeneration.- Dent Mater. 2017 Jan;33(1):71-83.

195. Rezende M.L., Cunha Pde O., Damante C.A., Santana A.C., Gregghi S.L., Zangrando M.S. Cyanoacrylate Adhesive as an Alternative Tool for Membrane Fixation in Guided Tissue Regeneration.- JContemp Dent Pract. 2015.- Jun 1;16(6):512-8.

196. Singh, P. Clinical evaluation of GEM 21S(®) and a collagen membrane with a coronally advanced flap as a root coverage procedure in the treatment of gingival recession defects: A comparative study/ P. Singh, D.K. Suresh // J Indian Soc Periodontol. – 2012 Oct. – vol. 16(4) . – pp. 577-83

197. Du J, Shan Z, Ma P, Wang S, Fan Z. Allogeneic bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for periodontal regeneration. J Dent Res. 2014 Feb;93(2):183-8. doi: 10.1177/0022034513513026.

198. Giannobile W.V. and McClain P.K. Enhancing Periodontal Health Through Regenerative Approaches.- Journal of Periodontology. February 2015, Vol. 86, No. 2-s, P. S1-S3.

199. Kothiwale S.V. The evaluation of chorionic membrane in guided tissue regeneration for periodontal pocket therapy: a clinical and radiographic study. Cell Tissue Bank. 2014 Mar;15(1):145-52.

200. Коваленко В.Н. Применения препаратов гиалуроновой кислоты для лечения при остеоартрозе / В.Н. Коваленко, О.В. Борткевич, Н.С. Бойчук // Укр. ревматол. журнал. – 2015. – № 1. – С. 51-54.

201. Макаренко О.А. Влияние орального фитогеля с гиалуроновой кислотой на развитие экспериментального стоматита / О.А. Макаренко, И.И. Соколова, Н.Л. Хлистун, К.В. Скидан // Вісник стоматології. – 2013. – № 1. – С. 24-26.

202. Хлистун Н.Л. Лікувальний ефект кверцетину і гіалуронової кислоти при дії на ясна ліпополісахариду / Н.Л. Хлистун // Вісник стоматології. – 2014. – № 1. – С. 9-12.

203. Heden P. Nasal reshaping with hyaluronic acid: an alternative or complement to surgery / P. Heden // Peast Reconstr. Sury Glob. Open. – 2016. – Vol. 4. – P. 11-20.

204. Ho D. Biological properties a new volumizing hyaluronic acid filler: a systemic review / D. Ho, J. Jaddeo // Journal of drugs in dermatology. – 2015. – Vol. 14, № 1. – P. 50-54.

205. Santilli V. Hyaluronic acid in the management of osteoarthritis: injection therapies innovation / V. Santilli, M. Paoloni, M. Mangone [et al.] // Clin Cases Miner Bone Metab. – 2016. – Vol. 13, № 2. – P. 131-134.

206. Voight J. Hyaluronic acid derivatives and their healing effect on burns, epithelial surgical wounds and chronic wounds. A systematic mized controlled trials /

J. Voight, V.R. Driver // Wound repair and regeneration. – 2012. – Vol. 20, № 3. – P. 317-331.

207. Ziganshina M.M. Hyaluronic acid in vascular and immune homeostasis during normal pregnancy and preeclampsia / M.M. Ziganshina, S.V. Pavlovich, N.N. Bovin, T. Sukhikh // Acta natural. – 2016. – Vol. 8, № 3. – P. 59-71.

208. Белоклицкая Г.Ф., Колесова Н.А., Центило Т.Д. Оценка эффективности применения препарата «Генгигель» в комплексном лечении больных генерализованными заболеваниями тканей пародонта.// Современная стоматология. – 2011. – № 5 (59)

209. Митронин А., Вавилова Т. Применение препарата «Гиалудент» в лечении воспалительных заболеваний пародонта // Пародонтология. – 2011. – № 2. – С. 34–36.

210. Comparative analysis of hyaluronan gel and xanthan-based chlorhexidine gel, as adjunct to scaling and root planing with scaling and root planing alone in the treatment of chronic periodontitis / A. S. Chauhan □et al.] // A preliminary study. Contemp. Clin. Dent. – 2013. № 4 (1). – P. 54–61.

211. Local application of hyaluronan gel in conjunction with periodontal surgery / Fawzy El-Sayed K. M. □et al.] // A randomized controlled trial. Clin. Oral. Invest. – 2012. – № 16. – P. 1229–1236.

212. Афанасенко К.Ю. Досвід використання гелю на основі гіалуронової кислоти при лікуванні хронічного катарального гінгівіту / К.Ю. Афанасенко // Вісник стоматології, -№ 4 - 2013. - С. 119-120.

213. Inci I., Norouz Dizaji A., Ozel C., Morali U., Dogan Guzel F., Avci H. (2020). Decellularized inner body membranes for tissue engineering: a review. J. Biomater. Sci. Polym. Edition 31 1287–1368. 10.1080/09205063.2020.1751523 Lacorzana J. (2020).

214. Liu H., Zhou Z., Lin H., Wu J., Ginn B., Choi J. S., et al. (2018). Synthetic nanofiber-reinforced amniotic membrane via interfacial bonding. ACS Appl. Mater. Interfaces 10 14559–14569. 10.1021/acsami.8b03087

215. Liu J., Zou H., Zeng M., Huang A. M., Chen Y., Han E., et al. (2020). Cytoprotective effect of amniotic membrane extracts on human corneal epithelial cells exposed to benzalkonium chloride in vitro. *Ann. Eye Sci.* 5 11 10.21037/aes.2020.02.06
216. Horn A., Saller J., Cuttica D., Neufeld S. (2019). Review of use of amniotic membrane allograft in total ankle replacements. *Foot Ankle Orthopaedics* 4 2473011419S00222.
217. Hossain M. L., Rahman M. A., Siddika A., Adnan M., Rahman H., Diba F., et al. (2020). Medicine, burn and wound healing using radiation sterilized human amniotic membrane and *Centella asiatica* derived gel: a review. *Regen. Eng. Transl. Med.* 6, 347–357.
218. Choi Y. K., Din F. U., Kim D. W., Kim Y. I., Kim J. O., Ku S. K., et al. (2014). Amniotic membrane extract-loaded double-layered wound dressing: evaluation of gel properties and wound healing. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 40 852–859. 10.3109/03639045.2013.788015.
219. Singh R., Kumar D., Kumar P., Chacharkar M. P. (2008). Development and evaluation of silver-impregnated amniotic membrane as an antimicrobial burn dressing. *J. Burn Care Res.* 29 64–72. 10.1097/bcr.0b013e31815f5a0f
220. Murphy S. V., Skardal A., Nelson R. A., Jr., Sunnon K., Reid T., Clouse C., et al. (2019). Amnion membrane hydrogel and amnion membrane powder accelerate wound healing in a full thickness porcine skin wound model. *Stem Cells Transl. Med.* 9 80–92. 10.1002/sctm.19-0101.
221. Brücher V. C., Eter N., Uhlig C. E. (2020). Results of resorbable and running sutured amniotic multilayers in sterile deep corneal ulcers and perforations. *Cornea* 39 952–956.
222. Cai M., Zhang J., Guan L., Zhao M. (2015). Novel implantable composite biomaterial by fibrin glue and amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 26 149.

223. Washburn S., Jennell J. L., Hodges S. J. (2010). Halofuginone-and chitosan-coated amnion membranes demonstrate improved abdominal adhesion prevention. *Sci. World J.* 10 2362–2366. 10.1100/tsw.2010.234.

224. Najibpour N., Ahmed M. A. A. H., Bananzadeh A., Rezaianzadeh A., Kermani M. R., Gabash K. M., et al. (2016). The effect of human amniotic membrane as a covering layer on propylene mesh in decrease of adhesion after laparotomy in the rabbit. *Comp. Clin. Pathol.* 25 131–135. 10.1007/s00580-015-2153-5.

225. Sorsby A. Further experience with amneotice membrane grafts in caustic burn of the eye / A. Sorby, J. Haythorne, H. Reed // *Br. J. Ophtalmol.* 1947. – Vol.31. – P. 409-418.

226. Tseng S. Evolution of amniotic membrane transplantation // *Clin Experiment. Ophthalmol.* – 2007. – Vol. 35, N 2. – P.109-110.

227. Koizumi N. Cultivated epithelialstem cell transplantation in ocular surface disorders / N. Koizumi, T. Inatomi, T. Suzuki // *Ophthalmology.* – 2001. –Vol. 108, N 9. – P. 1569-1574.

228. Fatimah S.S., Ng S.L., Chua K.H., Hayati A.R., Tan A.E., Tan G.C. Value of human amniotic epithelial cells in tissue engineering for cornea. *Hum Cell.* 2010; 23 (4): 141–51.

229. Kumar A., Chandra R.V., Reddy A.A., Red-dy B.H., Reddy C., Naveen A. Evaluation of clinical, antiinflammatory and antiinfective properties of amniotic membrane used for guided tissue regeneration: A randomized controlled trial. *Dent Res J. (Isfahan).* 2015; 12 (2): 127–35

230. Favaron P.O., Carvalho R.C., Borghesi J., Anunciação A.R., Miglino M.A. The Amniotic Membrane: Development and Potential Applications – A Review. *Reprod Domest Anim.* 2015; 50 (6): 881–92.

231. Okabe M., Kitagawa K., Yoshida T., Suzuki T., Waki H., Koike C., Furuichi E., Katou K., Nomura Y., Uji Y., Hayashi A., Saito S., Nikai-do T. Hyperdry human amniotic membrane is useful material for tissue engineering: physical, morphological properties, and safety as the new biological material. *J. Biomed. Mater Res A.* 2014; 102 (3): 862–70.

232. Steed D.L., Trumpower C., Duffy D., Smith C., Marshall V., Rupp R., Robson M. Amnion-derived cellular cytokine solution: a physiological combination of cytokines for wound healing. *Eplasty*. 2008; 8: e18.

233..Litwiniuk M., Grzela T. Amniotic membrane: new concepts for an old dressing. *Wound Repair Regen*. 2014; 22 (4): 451–6.

234. Li H., Chu Y., Zhang Z., Zhang G., Jiang L., Wu H., Liu S., Yu C., Jin Y. Construction of bi-layered tissue-engineered skin with human amniotic mesenchymal cells and human amniotic epithelial cells. *Artif Organs*. 2012; 36 (10): 911–9.

235. Miki T., Wong W., Zhou E., Gonzalez A., Garcia I., Grubbs B.H. Biological impact of xeno-free chemically defined cryopreservation medium on amniotic epithelial cells. *Stem Cell Res Ther*. 2016; 7: 8.

236. Гуляева ОА, сост. Применение аутологичной тромбоцитарной плазмы в стоматологии: учеб. пособие. Уфа: Здравоохранение Башкортостана; 2016.75 с.

237. Yang W.H., Deng Y.T., Hsieh Y.P., Wu K.J., Kuo M.Y. NADPH Oxidase 4 Mediates TGF β 1-induced CCN2 in Gingival Fibroblasts. *J Dent Res*. 2015 Jul;94(7):976-82

238. Yoshimoto T., Fujita T., Kajiya M., Matsuda S., Ouhara K., Shiba H., Kurihara H.. Involvement of smad2 and Erk/Akt cascade in TGF- β 1-induced apoptosis in human gingival epithelial cells. *Cytokine*. 2015 Sep;75(1):165-73.

239. Gulati M. Host modulation therapy: an indispensable part of perioceutics // M. Gulati, V. Govila, N. Jane // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2014. – Vol. 18, № 3. – P. 282-288

240. Ушаков Р.В. Противовоспалительная терапия в пародонтологии. Учебное пособие / Р.В. Ушаков, Т.П. Герасимова, Т.В. Ушакова, В.В. Коркин. – М., РМАНПО, 2016. – 89 с

241. Вовк В.Ю., Вов В.Ю., Дельцова О.І. Експериментальне вивчення репаративного остеогенезу кісткових дефектів, заповнених кальційфосфатними біоматеріалами у поєднанні зі збагаченою тромбоцитами плазмою крові. *Новини стоматології*. 2009;(1):53-61.

242. Парфенова, С.В. Показатели функциональной активности тромбоцитов как диагностический критерий воспалительных заболеваний пародонта / С.В. Парфенова [и др.] // Фундаментальные исследования. – Саратов. – 2012. – № 5. – С. 330-333.

243. Копчак ОВ. Зміни функціональної активності тромбоцитів та їх концентраційної здатності при отриманні PRP-препаратів у хворих на генералізований пародонтит та кардіоваскулярну патологію. Наук. вісн. Ужгор. ун-ту. Сер. Медицина. 2017;(1):122-9.

244. Коркушко ОВ, Лишневская ВЮ. Тромбоциты: физиология, морфология, возрастные и паталогические особенности, антитромбоцитарная терапия. Київ: Медкн.; 2011. 240 с.

245. Atik OŞ. Platelet-rich plasma: Everything new may not be good enough! Eklem Hastalik Cerrahisi. 2017 Aug;28(2):63. doi: 10.5606/ehc.2017.00061.

246. Hersant B, La Padula S, SidAhmed-Mezi M, Rodriguez AM, Meningaud JP. Use of platelet-rich plasma (PRP) in microsurgery. J Stomatol Oral Maxillofac Surg. 2017 Sep;118(4):236-237. doi: 10.1016/j.jormas.2017.05.009.

247. Kobayashi E, Fujioka-Kobayashi M, Sculean A, Chappuis V, Buser D, Schaller B, et al. Effects of platelet rich plasma (PRP) on human gingival fibroblast, osteoblast and periodontal ligament cell behaviour. BMC Oral Health. 2017 Jun 2;17(1):91. doi: 10.1186/s12903-017-0381-6.

248. Keskiner I., Alkan A., Acikgoz G., Arpak N., Kaplan S., Arslan H. Plateletrich plasma and autogenous bone graft combined with guided tissue regeneration in periodontal fenestration defects in dogs.- Int J Periodontics Restorative Dent. 2014 Nov-Dec;34(6):e112-20.

249. Reynolds M.A., Kao R.T., Camargo P.M., Caton J.G., Clem D.S., Fiorellini J.P., Geisinger M.L., Mills M.P., Nares S., Nevins M.L. Periodontal regeneration - intrabony defects: a consensus report from the AAP Regeneration Workshop.- J Periodontol. 2015 Feb;86(2 Suppl):S105-7

250. Doğan G.E., Demir T., Orbak R. Effect of low-level laser on guided tissue regeneration performed with equine bone and membrane in the treatment of intrabony defects: a clinical study.- *Photomed Laser Surg.* 2014 Apr;32(4):226-31.

251. Kao R.T., Nares S., Reynolds M.A. Periodontal regeneration - intrabony defects: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop.- *J Periodontol.* 2015 Feb;86(2 Suppl):S77-104.

252. Mitani A., Takasu H., Horibe T., Furuta H., Nagasaka T., Aino M., Fukuda M., Fujimura T., Mogi M., Noguchi T. Five-year clinical results for treatment of intrabony defects with EMD, guided tissue regeneration and open-flap debridement: a case series.- *J Periodontal Res.* 2015 Feb;50(1):123-30.

253. Mopur J.M., Devi T.R., Ali S.M., Srinivasa T.S., Gopinath V., Salam A.R. Clinical and radiographic evaluation of regenerative potential of GTR membrane (Biomesh®) along with alloplastic bone graft (Biograft®) in the treatment of periodontal intrabony defects.-*J Contemp Dent Pract.* 2013 May 1;14(3):434-9.

254. Sánchez-Torres A., Sánchez-Garcés M.Á., Gay-Escoda C. Materials and prognostic factors of bone regeneration in periapical surgery: a systematic review.- *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014 Jul 1;19(4):e419-25.

255. Shue L., Yufeng Z., Mony U. Biomaterials for periodontal regeneration: a review of ceramics and polymers.- *Biomater.* 2012 Oct-Dec;2(4):271-7.

256. Yen C.C., Tu Y.K., Chen T.H., Lu H.K. Comparison of treatment effects of guided tissue regeneration on intrabony lesions between animal and human studies: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res.* 2014 Aug;49(4):415-24.

257. Biloklytska GF, Kopchak OV, Dieiev VA, Rozdobudko NI. Functional activity of platelets and their aggregation ability in PRP-preparation in patients with periodontitis associated with cardiovascular pathology. *Stomatologia Współczesne.* 2016;23(5):16-20.

258. Копчак ОВ. Оптимізація методики отримання препаратів для ін'єкційного введення тромбоцитарної аутоплазми хворим на генералізований

пародонтит. В: Вороненко ЮВ, редактор. Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. ПЛ. Шупика. Київ; 2017;28, с. 408-15.

259. Копчак ОВ. Визначення клінічної ефективності застосування тромбоцитарної аутоплазми при лікуванні хворих на генералізований пародонтит з супутньою кардіоваскулярною патологією. Інновації в стоматології. 2017;(1):49-53.

260. Biloklytska GF, Kopchak OV, Dieiev VA, Rozdobudko NI. Optimization of method for obtaining preparations to conduct PRP injection therapy. *Stomatologia Współczesne*. 2017;24(3):28-31.

261. Kopchak OV. Evaluation of the clinical effectiveness of a modified technique of injecting prp-therapy in complex treatment of generalized periodontitis patients with concomitant cardiovascular diseases. *J Educ Health Sport*. 2017;7(5):868-77.

262. Biloklytska GF, Kopchak OV, Dieiev VA, Rozdobudko NI. New algorithm of injection PRP-therapy in parodontology. *J Educ Health Sport*. 2017;7(10):198-206.

263. Білоклицька ГФ, Копчак ОВ. Оцінка клінічної ефективності застосування ін'єкційної форми тромбоцитарної аутоплазми на етапі первинного пародонтологічного лікування генералізованого пародонтиту (фаза І). В: Матеріали VI Укр. Міжнар. конгр. Стоматологія. Імплантація. Остеоінтеграція; 2014 Трав 16-17; Київ. Київ; 2014, с. 308-10.

264. Білоклицька ГФ, Копчак ОВ. Перспективи застосування ін'єкційної PRP терапії в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит, асоційований з кардіоваскулярними захворюваннями. В: Сб. тез. междунар. конф. Регенеративные технологии в современной медицине; 2017 Май 25-26; Одесса. Одесса; 2017, с. 15-6.

265. Ахмеров РР. Регенеративная медицина на основе аутологичной плазмы. Технология Plasmolifting™. М.: Литтерра; 2014. 160 с.

266. Таранова НЮ, Виниченко ЕЛ, Перова НЮ, Борискова ИВ. Плазмолифтинг как инновационный метод лечения заболеваний пародонта на

етапе післявузовського навчання. *Міжнарод. журн. експерим. освіти*. 2014;(4):253-5.

267. Ярова СП, Коваленко ЯО, Максютенко АС. Використання багатоклеткової плазми в стоматології *Укр. стоматол. альманах*. 2013;(4):36-7.

268. Ярова СП, Попандопулод АГ, Брашкін АП, Буше В.В. Спосіб використання збагаченої тромбоцитами плазми у лікуванні генералізованого пародонтиту II–III ступеню тяжкості. *Університет. клініка*. 2014;10(1):82-4.

269. Suchetha A, Lakshmi P, Bhat D, Mundinamane DB, Soorya KV, Bharwani GA. Platelet concentration in platelet concentrates and periodontal regeneration-unscrambling the ambiguity. *Contemp Clin Dent*. 2015 OctDec;6(4):510-6. doi: 10.4103/0976-237X.169850.

270. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone*. 2004 Apr;34(4):665-71.

271. Гринкевич ЛГ, Трифаненко СІ. Використання збагаченої тромбоцитами плазми для оптимізації репараційного остеогенезу при атипичному видаленні зубів. *Хист*. 2016;(18):С. 517.

272. Матрос-Таранець ІМ, Каліновський ДК, Дзюба МВ. Варіанти клінічного використання тромбоцитарного концентрату в щелепно-лицевій хірургії. *Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія*. 2006;(1):10-5.

273. Anitua E, Prado R, Troya M, Zalduendo M, De la Fuente M, Pino A, et al. Implementation of a more physiological plasma rich in growth factor (PRGF) protocol: Anticoagulant removal and reduction in activator concentration. *Platelets*. 2016 Jul;27(5):459-66. doi: 10.3109/09537104.2016.1143921.

274. Freymiller EG. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004 Aug;62(8):1046; author reply 1047-8.

275. Nazaroglou I, Stavrianos C, Kafas P, Matoulas E, Upile T, Barlas I, et al. Radiographic evaluation of bone regeneration after the application of plasma rich in growth factors in a lower third molar socket: a case report. *Cases J*. 2009 Dec 3;2:9134. doi: 10.1186/1757-1626-2-9134.

276. Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2013 Mar;66(3):301-11. doi: 10.1016/j.bjps.2012.11.009. Epub 2012 Dec 11.

277. Velich N, Szabó G. Application of platelet-rich plasma in oral surgery. Theoretical background and practical requirements—review. *Fogorv Sz*. 2002 Jun;95(3):119-23.

278. Barona-Dorado C, González-Regueiro I, Martín-Ares M, Arias-Irimia O, Martínez-González JM. Efficacy of platelet-rich plasma applied to post-extraction retained lower third molar alveoli. A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014 Mar 1;19(2):e142-8.

279. Lin Z., Rios H.F., Cochran D.L. Emerging regenerative approaches for periodontal reconstruction: A systematic review from the AAP regeneration workshop. *J Periodontol* 2015;86(Suppl.):S134-S152.

280. Wang, Z.S.; Feng, Z.H.; Wu, G.F.; Bai, S.Z.; Dong, Y.; Chen, F.M.; Zhao, Y.M. The use of platelet-rich fibrin combined with periodontal ligament and jaw bone mesenchymal stem cell sheets for periodontal tissue engineering. *Sci. Rep*. 2016, 6, 28126.

281. Barona-Dorado C, González-Regueiro I, Martín-Ares M, Arias-Irimia O, Martínez-González JM. Efficacy of platelet-rich plasma applied to post-extraction retained lower third molar alveoli. A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014 Mar 1;19(2):e142-8.

282. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

283. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах. Методичні рекомендації. – Київ, 2006. – 16 с.

284. Сукманский О. И. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита / О. И. Сукманский, О. А. Макаренко // Вісник стоматології. – 2006. - № 2. – С. 2-3.

285. Hu, Y. Induction of B10 function on ligature-induced experimental periodontitis / Y. Hu, Z. Liu, T. Kawai [et al.] // The Journal of Immunology. – 2016. – Vol. 196, №1 Supplement. – P. 563.

286. Sculean, A. Wound models for periodontal and bone regeneration: the role of biologic research / A. Sculean, I.L. Chapple, W.V. Giannobile // Periodontol 2000. – 2015 Jun. – vol. 68(1) . – pp. 7-20.

287. Попова Л.Н. Как изменяются границы образующегося эпидермиса при заживлении ран: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Воронеж, 1942. – 14 с.

288. Кузин М.И., Костюченко Б.А. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей. – Москва: Медицина, 1990. – 592 с.

289. T J O'Leary, R B Drake, J E Naylor, The plaque control record / J Periodontol. 1972 Jan;43(1):38. doi: 10.1902/jop.1972.43.1.38.

290. J Ainamo, I Bay, Problems and proposals for recording gingivitis and plaque/Int Dent J. 1975 Dec;25(4):229-35.

291. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. Менбшикова В.В. – М.: Медицина. – 1987. – 368 с.

292. Барабаш Р.Д., Левицкий А.П. Казеинолитическая и БАЭЭ-эстеразная Активность слюны и слюнных желез крыс в постнатальном онтогенезе // Бюлл. Эксперим. биол. – 1973. - №8. – С. 65-67.

293. Visser L., Blaut E.R. The use of p-nitrophenyl - N – tert butyl - Oхуcarbomyl – a – alaninate as substrate for elastase // Biochim. Et biophys. asta. – 1972. – Vol. 268, №. 1. – P. 275-280.

294. Левицкий А.П., Пищеварительные ферменты слюнных желез. – Дис. ... д.б.н: 03.00.04 / Одесский Гос. Ун-т. Им. И.И. Мечникова. - Одесса. - 1974. – С. 137-138.

295. Левицкий А.П., Марченко А.И., Рыбак Т.Л. Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны // Лабор. Дело. – 1973. - №10. – С.624-625.

296. Минченко Б.И., Беневоленский Д.С., Тишенина Р.С. Биохимические показатели метаболических нарушений в кости ткани. Часть II. Образование кости // Клинич. лабор. диагностика. - 1999. - №4. – С. 11-17.

297. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 66-68.

298. Метод определения активности каталазы / М. А. Корлюк, Л.И. Иванова, Н.Т. Майорова, В.Е. Токарев // Лабор. дело. - 1988. – № 1. – С. 16-18.

299. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, перевод с англ. Под. ред. Меншикова, стр. 228-232, «Лабинформ», Москва, 1997.

300. Левицкий А. П. Саливация у здоровых лиц разного возраста и у стоматологических больных / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Л. Н. Россаханова // Вісник стоматології. – 2005. – Спецвыпуск, №2. – С. 7–8.

301. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / Левицкий А. П. – Одесса, КПОГТ. – 2005. – 74 с.

302. Гаврилова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврилова, И. Т. Сегень // Стоматология. – 1996. – Спец. выпуск. – С. 49–50.

303. Гири́н С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гири́н // Лабор. диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45–46.

304. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии / В.С. Асатиани. – М.: Наука, 1965. – 298 с.

305. Левицкий А. П. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: [метод. рекомендации] / Левицкий А.П., Макаренко О.А., Селиванская И.А. [и др.]. – К.:ГФЦ, 2007.–22 с

306. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з

експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами / А. П. Левицький, В. М. Почтар, О. А. Макаренко, Л. І. Гридіна // Одеський мед.журн. – 2006. – № 1. – С. 22–25.

307. Николаева А.В. Влияние некоторых нейротропных средств на состояние тканей пародонта при раздражении верхнего шейного симпатического узла: Автореф.дис. канд. мед. наук. – Харьков, 1967. – 28 с.

308. Bartold PM, Gronthos S, Ivanovski S et al. Tissue engineered periodontal products. J Periodontal Res 2016;51:1–15.

309. Чумакова Ю.Г. Анализ клинических и биохимических показателей модифицированной модели лигатур-индуцированного пародонтита у крыс / Ю.Г. Чумакова, А.А. Вишневская, А.З. Какабадзе, Л.Г. Каралашвили, З.Ш. Какабадзе // Georgian Medical News. – 2014. - № 10 (235). – С. 63-69.

310. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика / А. И. Кобзарь. – М. : Физматлит, 2006. – 816 с.

311. Handbook of biochemistry and molecular biology / eds.: Roger L. Lundblad and Fiona Macdonald. – CRC Press, 2018. – 1002 p.

312. Вишневская А.А. Ремоделирование костной ткани челюстей после инъекционного введения аутоплазмы в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская // Colloguium-journal. – 2020. - №30. – С. 68-72.

313. Вишневская А.А. Динамика изменений биохимических маркеров воспаления при лечении генерализованного пародонтита с использованием плазмогеля и гиалуроновой кислоты в эксперименте / А.А. Вишневская // Colloguium-journal. – 2020. - №31. – С. 65-71.

314. Vyshnevskia Hanna. Analysis of oxidative stress markers in the treatment of generalized parodontitis with plasmogel and hyaluronic acid in experiment / Hanna Vyshnevskia // Modern science. Moderni veda. – 2020. - №4. – С. 95-103.

315. Вишневская А.А. Антиоксидантно-прооксидантное соотношение в сыворотке крови при лечении генерализованного пародонтита плазмогелем и гиалуроновой кислотой в эксперименте / Вишневская А.А. // Colloguium-journal. – 2020. - №19. – С. 20-22.

316. Вишневская А.А. Экспериментальное обоснование применения плазмогеля и гиалуроновой кислоты для лечения генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская // Інновації в стоматології. – 2019. – № 2. – С. 54-59.

317. Вишневская А.А. Противовоспалительное действие плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и гиалуроновой кислоты при экспериментальном пародонтите у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - №45. – С. 15-19.

318. Vyshnevskia H.O. Development and study of perspective clinical properties of biologically active matrix composed of decellularized lyophilized human amniotic membrane in combination with platelet-derived growth factors and hyaluronic acid / H.O. Vyshnevskia, Z.Sh. Kakabadze, S.A. Schnayder, O.I. Tiron, O.F. Dzygal // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – № 9 (11). – P. 410-418.

319. Karalashvili L. Acellular human amniotic membrane as three-dimensional scaffold for the treatment of mucogingival defects / Karalashvili L., Kakabadze A., Vyshnevskia G., Kakabadze Z.// Georgian Medical News. – 2015. - № 7-8 (244-245). – С. 84-89.

320. Вишневська Г.О. Морфологічна оцінка регенерації періодонтальної зв'язки при лікуванні генералізованого пародонтиту плазмогелем з тромбоцитарної аутоплазми / Г.О. Вишневська, С.А. Шнайдер, О.Е. Рейзвіх, Г.О. Бабеня, М.Т. Христова // Світ медицини та біології. – 2020. - №4. – С. 174-179.

321. Вишневская А.А. Реваскуляризация дефекта в области прикрепленной десны на слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс после закрытия матриксом с биологически активными материалами / А.А. Вишневская, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - №44. – С. 3-8.

322. Вишневская А.А. Рентгенологический анализ заживления костного дефекта альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс с использованием

различных видов биологически активных матриксов / А.А. Вишневская, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. - №3. – С. 10-16.

323. Вишневська Г.О. Відновлення кісткового пародонтального дефекту біологічно активним матриксом з гіалуроновою кислотою та тромбоцитарними факторами росту в експерименті / Г.О. Вишневська, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. - №2. – С. 10-16.

324. Вишневская А.А. Анализ клинической эффективности препаратов аутоплазмы в комплексном лечении генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - №35. – С. 34-37.

325. Вишневская А.А. Клиническая оценка методов регенеративной терапии в комплексном лечении генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - № 32. – С. 63-67.

326. Пародонтит. XXI век: монография / К.Г. Гуревич, Л.А. Дмитриева, Л.М. Тебloeва [и др.]. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 480 с.

327. Molecular, Cellular, and Tissue Engineering / eds.: Bronzino, Joseph D., and Donald R. Peterson.. CRC Press, 2015.

328. Sculean, A. Biomaterials for promoting periodontal regeneration in human intrabony defects: a systematic review / A. Sculean, D. Nikolidakis, G. Nikou, A. Ivanovic, I.L. Chapple, A. Stavropoulos // Periodontol 2000. – 2015 Jun. – vol. 68(1). – pp. 182-216.

329. Jayakumar A, Rajababu P, Rohini S, et al. Multicentre, randomized clinical trial on the efficacy and safety of recombinant human platelet-derived growth factor with b-tricalcium phosphate in human intraosseous periodontal defects. J Clin Periodontol 2011;38:163-172.

330. Kaigler D, Avila G, Wisner-Lynch L, et al. Platelet-derived growth factor applications in periodontal and peri-implant bone regeneration. Expert Opin Biol Ther 2011;11:375-385.

331. Vangelisti R, Pagnacco O, Ristagno G et al. Prevention of hemorrhage and dental treatment of patients with congenital or acquired coagulopathies. Minerva Stomatol. 1997 Nov;46(11):621-6.

332. Биомеханика системы «зуб–периодонт–костная ткань»: монография / С. А. Наумович [и др.]. – Минск : БГМУ, 2009. – 279 с. – ISBN 978–985–528–010–2.

333. Cai X., Yang F., Walboomers X.F., Wang Y., Jansen J.A., van den Beucken J.P., Plachokova A.3. Periodontal regeneration via chemoattractive constructs.- J Clin Periodontol. 2018 Jul;45(7):851-860.

334. Tansriratanawong K., Wongwan P., Ishikawa H., Nakahara T., Wongravee K. Cellular responses of periodontal ligament stem cells to a novel synthesized form of calcium hydrogen phosphate with a hydroxyapatite-like surface for periodontal tissue engineering.- J Oral Sci. 2018 Aug 12.

335. Cho Y.D., Kim K.H., Ryoo H.M., Lee Y.M., Ku Y., Seol Y.J. Recent advances of useful cell sources in the periodontal regeneration. -Curr Stem Cell Res Ther. 2018 Aug 15.

336. Enilson A Sallum 1, Fernanda V Ribeiro 2, Karina S Ruiz 1, Antonio W Sallum 1 Affiliations expand. Experimental and clinical studies on regenerative periodontal therapy Review Periodontol 2000 2019 Feb;79(1):22-55. doi: 10.1111/prd.12246.

337. Amniotic membrane, clinical applications and tissue engineering. Review of its ophthalmic use. Arch. Soc. Española Oftalmol. 95 15–23. 10.1016/j.oftale.2019.09.008

338. Bottino M.C., Thomas V. Membranes for Periodontal Regeneration--A Materials Perspective.-Front Oral Biol. 2015;17:90-100.

ДОДАТОК А

1. Вишневская А.А. Влияние тромбоцитарной аутоплазмы на процесс регенерации тканей пародонта при экспериментальном пародонтите у крыс / А.А. Вишневская // East European Science Journal. – 2018. - №5. – С. 22-24.
2. Вишневская А.А. Экспериментальное обоснование применения плазмогеля и гиалуроновой кислоты для лечения генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская // Інновації в стоматології. – 2019. – № 2. – С. 54-59.
3. Вишневская А.А. Антиоксидантно-прооксидантное соотношение в сыворотке крови при лечении генерализованного пародонтита плазмогелем и гиалуроновой кислотой в эксперименте / Вишневская А.А. // Colloquium-journal. – 2020. - №19. – С. 20-22.
4. Вишневская А.А. Ремоделирование костной ткани челюстей после инъекционного введения аутоплазмы в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская // Colloquium-journal. – 2020. - №30. – С. 68-72.
5. Вишневская А.А. Динамика изменений биохимических маркеров воспаления при лечении генерализованного пародонтита с использованием плазмогеля и гиалуроновой кислоты в эксперименте / А.А. Вишневская // Colloquium-journal. – 2020. - №31. – С. 65-71.
6. Vyshnevskia Hanna. Analysis of oxidative stress markers in the treatment of generalized parodontitis with plasmogel and hyaluronic acid in experiment / Hanna Vyshnevskia // Modern science. Moderni veda. – 2020. - №4. – С. 95-103.
7. Чумакова Ю.Г. Анализ клинических и биохимических показателей модифицированной модели лигатур-индуцированного пародонтита у крыс / Ю.Г. Чумакова, А.А. Вишневская, А.З. Какабадзе, Л.Г. Каралашвили, З.Ш. Какабадзе // Georgian Medical News. – 2014. - № 10 (235). – С. 63-69. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, зборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*
8. Karalashvili L. Acellular human amniotic membrane as three-dimensional scaffold for the treatment of mucogingival defects / Karalashvili L., Kakabadze A., Vyshnevskia G., Kakabadze Z. // Georgian Medical News. – 2015. - № 7-8 (244-245). – С. 84-89. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, зборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*
9. Вишневська Г.О. Морфологічна оцінка регенерації періодонтальної зв'язки при лікуванні генералізованого пародонтиту плазмогелем з тромбоцитарної аутоплазми / Г.О. Вишневська, С.А. Шнайдер, О.Е. Рейзвіх,

Г.О. Бабеня, М.Т. Христова // Світ медицини та біології. – 2020. - №4. – С. 174-179. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

10. Вишневська Г.О. Оцінка впливу препаратів аутоплазми на активність еластази та вміст малонового діальдегіду в ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит / Г.О. Вишневська, С.А. Шнайдер, Л.М. Хромагіна // Вісник стоматології. – 2020. - №4. – С. 2-8. *Участь здобувача полягає у лікуванні хворих, заборі матеріалу для проведення лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

11. Вишневская А.А. Анализ клинической эффективности препаратов аутоплазмы в комплексном лечении генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - №35. – С. 34-37. *Участь здобувача полягає у лікуванні хворих, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

12. Вишневская А.А. Клиническая оценка методов регенеративной терапии в комплексном лечении генерализованного пародонтита / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - № 32. – С. 63-67. *Участь здобувача полягає у лікуванні хворих, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

13. Вишневская А.А. Реваскуляризация дефекта в области прикрепленной десны на слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс после закрытия матриксом с биологически активными материалами / А.А. Вишневская, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - №44. – С. 3-8. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

14. Вишневская А.А. Противовоспалительное действие плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и гиалуроновой кислоты при экспериментальном пародонтите у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - №45. – С. 15-19. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

15. Вишневская А.А. Рентгенологический анализ заживления костного дефекта альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс с использованием различных видов биологически активных матрикс / А.А. Вишневская, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. - №3. – С. 10-16. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі*

матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.

16. Вишневська Г.О. Відновлення кісткового пародонтального дефекту біологічно активним матриксом з гіалуроновою кислотою та тромбоцитарними факторами росту в експерименті / Г.О. Вишневська, З.Ш. Какабадзе, С.А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. - №2. – С. 10-16. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

17. Вишневская А.А. Метаболизм костной ткани в динамике при лечении генерализованного пародонтита плазмогелем и гиалуроновой кислотой в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - №21. – С. 19-23. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

18. Вишневская А.А. Локальная методика введения плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и гиалуроновой кислоты для лечения генерализованного пародонтита в эксперименте у крыс / А.А. Вишневская, С.А. Шнайдер // Colloquium-journal. – 2020. - №22. – С. 50-53. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

19. Vyshnevskia H.O. A comparative study on the effectiveness of application of different types of biological matrixes on mandibular alveolar mucosa lesion healing / H.O. Vyshnevskia, Z.Sh. Kakabadze, , S.A. Schnayder, L.M. Zayats, O.I. Tiron, R.S. Vastyanov // Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – № 10 (6). – P. 382-393. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

20. Vyshnevskia H.O. Development and study of perspective clinical properties of biologically active matrix composed of decellularized lyophilized human amniotic membrane in combination with platelet-derived growth factors and hyaluronic acid / H.O. Vyshnevskia, Z.Sh. Kakabadze, S.A. Schnayder, O.I. Tiron, O.F. Dzygal // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – № 9 (11). – P. 410-418. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, заборі матеріалу для лабораторних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

21. Karalashvili L. Bone grafts for reconstruction of bone defects (review) / L. Karalashvili, A. Kakabadze, M. Uhryn, H. Vyshnevskia, K. Ediberidze, Z.

Kakabadze // Georgian Med News. – 2018. – № 282. – Р. 44-49. *Участь здобувача полягає у проведенні інформаційних досліджень, написанні огляду літератури.*

22. Патент на корисну модель № 135219, Україна, МПК А61К 31/728 (2006.01). Спосіб естетичної корекції ясенного сосочка / Г.О. Вишневська, С.А. Шнайдер. – u 2019 00011; Заявл. 02.01.2019. Опубл. 25.06.2019. – Бюл. № 12.

23. Патент на корисну модель № 116957, України, МПК А61К 35/16, А61К 6/00. Спосіб лікування захворювань пародонту / Г.О. Вишневська. - u 2016 13306; Заявл. 26.12.2016. Опубл. 12.06.2017. – Бюл. № 11.

24. Вишневская А.А. Влияние обогащенной тромбоцитами плазмы крови на процесс ремоделирования костной ткани челюстей при экспериментальном пародонтите у крыс / Вишневская А.А. // Інновації в стоматології (Досягнення науки і практики в стоматології : наук.-практ. конф., м. Одеса, 23-24 жовтня 2014 р.: тези допов.). – 2014. - №3. – С. 149-150.

АПРОБАЦІЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові результати і основні положення дисертаційної роботи доповідалися і обговорювалися на симпозіумі «Пародонтологія та імплантопротетика» (Київ, 2014 - усна доповідь); науково-практичній конференції «Досягнення науки і практики в стоматології» (Одеса, 2014 - усна доповідь); міжнародній науково-практичній конференції «Регенеративна медицина на основі аутологічної плазми» (Одеса, 2014 - усна доповідь); другій міжнародній українсько-польській конференції «М'якотканинні аспекти в естетичній стоматології. Профілактика ускладнень в пародонтологічному та імплантологічному лікуванні» (Львів, 2014 - усна доповідь); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Регенеративна пародонтологія:сучасність і майбутнє» (Київ, 2015 - усна доповідь); міжнародній науково-практичній конференції «Клітинна терапія і тканинна біоінженерія в стоматології» (Одеса, 2015 - усна доповідь); конференції «Сучасні технології в профілактиці та лікуванні карієсу та захворювань тканин пародонту» (Кривий ріг, 2016 - усна доповідь); міжнародній конференції «Регенеративні технології в сучасній медицині» (Київ, 2017 - усна доповідь); науково-практичній конференції з міжнародною

участю «Досягнення та перспективи розвитку сучасної стоматології» (Одеса, 2018 - усна доповідь); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Пародонтологія вчора, сьогодні, завтра» (Львів, 2018 - усна доповідь); конференції «Концептуальна пародонтологія VII» (Полтава, 2018 - усна доповідь); European Congress «EuroPerio9» (Amsterdam, Holland, 2018 - усна доповідь); конгресі «Medical Aesthetic Synergy Congress» (Київ, 2019 - усна доповідь).