

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

На правах рукопису

ЛИСЕНКО ОЛЕКСАНДР СЕРГІЙОВИЧ

УДК 616.314.17-008.1-089:615.461

КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ  
ВИКОРИСТАННЯ МОДИФІКОВАНОЇ БІОКЕРАМІКИ ПРИ  
ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ  
ПАРОДОНТИТ

14.01.22 – стоматологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Науковий керівник:  
доктор медичних наук,  
проф. А.В. Борисенко

Київ – 2016

## ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Реконструктивне хірургічне лікування генералізованого пародонтиту, проблема регенерації та сучасні тенденції її вирішення	15
1.2. Використання глікозаміногліканів як стимуляторів репаративної регенерації тканин пародонта	29
1.3. Хімічна модифікація біоактивних керамічних матеріалів з метою оптимізації загоєння кісткової рани, роль іонних форм срібла та міді	34
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Методи клінічних досліджень	
2.1.1. Загальна характеристика хворих на генералізований пародонтит	46
2.1.2. Клініко-рентгенологічне обстеження	48
2.1.3. Індексна оцінка інтенсивності запалення ясен та гігієнічного стану порожнини рота	53
2.2. Методи вивчення властивостей біоактивного керамічного композиту	55
2.3. Мікробіологічні методи дослідження	56
2.4. Дослідження біосумісності та цитотоксичності	61
2.5. Експериментальні дослідження на лабораторних тваринах	64
2.6. Комплексне лікування хворих на генералізований пародонтит	69
2.6.1. Методика проведення хірургічного втручання	70
2.6.2. Обробка, інтерпретація та оцінка даних томографічного обстеження на етапах лікування	75

2.7. Статистична обробка отриманих даних	82
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЗРАЗКІВ БІОАКТИВНОГО КЕРАМІЧНОГО КОМПОЗИТУ</b>	
3.1. Модифікація біоактивного керамічного композиту	84
3.2. Фізико-хімічні властивості синтезованих зразків біоактивного керамічного композиту	90
3.3. Аналіз протимікробних властивостей модифікованої біокераміки	96
3.4. Оцінка цитотоксичності зразків керамічного композиту у культурі клітин людини	108
<b>РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ НА ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИНАХ</b>	
4.1. Динаміка змін біохімічних показників при загоєнні експериментальних дефектів кістки	115
4.2. Гістоморфологічна характеристика репарації кісткової тканини у тварин	121
<b>РОЗДІЛ 5. РЕЗУЛЬТАТИ КЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>	
5.1. Характеристика пацієнтів і пародонтальних кишень у групах дослідження перед хірургічним втручанням	132
5.2. Клініко-рентгенологічна динаміка змін тканин пародонта після хірургічного лікування на етапах дослідження	137
<b>РОЗДІЛ 6. УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	174
<b>ВИСНОВКИ</b>	183
<b>ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ</b>	186
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	187

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ**

ат.%	– атомний відсоток (частка)
БКС	– біоактивна кераміка «Синтекість»
БС	– біоактивне скло (ситал)
БФК	– (дво-) біфазна кераміка
ГАГ	– глікозаміноглікани
ГАП	– гідроксиапатит
ЕДТА	– етилендіамінотетраоцтова кислота
ЗПА	– загальна протеолітична активність
ІРЗР	– індекс раннього загоєння рани
КФ	– кисла фосфатаза
ЛФ	– лужна фосфатаза
мас.%	– масовий відсоток (частка)
ММСК	– мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини
МСКТ	– мультиспіральна комп'ютерна томографія
СЕМ	– растрова (скануюча) електронна мікроскопія
СТР	– спрямована тканинна регенерація
ТЕМ	– трансмісійна електронна мікроскопія
ТКФ	– трикальційфосфат
IGF	– інсуліноподібний фактор росту
PRP	– плазма збагачена тромбоцитами
TGF- $\beta$	– трансформуючий фактор росту – бета
VEGF	– фактор стимулюючий формування ендотелію судин

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Згідно численних епідеміологічних досліджень розповсюдженість захворювань пародонта залежно від регіону і віку обстежених досягає 42–98% [8, 67, 92]. За даними ВООЗ високий рівень захворювання на генералізований пародонтит (25–34%) виявляється уже у віці 35–49 років [151, 186]. В Україні відмічається зростання поширеності захворювань пародонта: тільки за період з 2008 по 2013 рр. вона зросла на 12,4% [102]. Серед захворювань пародонта найбільш тяжким є генералізований пародонтит [34, 98]. Втрата зубів і функціональні розлади зубощелепного апарату внаслідок захворювань пародонта розвиваються в 5–6 разів частіше, ніж при ускладненнях карієсу [29]. Все це підкреслює значення ефективного лікування захворювань пародонта.

Постійно персистуюча анаеробна та змішана мікрофлора пародонтальних кишень інфікує та сенсibiliзує організм. Виникає небезпека утворення джерел хроніосепсису [13], захворювань серцево-судинної системи [48, 59, 133], бактеріального ендокардиту [20].

Наслідком прогресування генералізованого пародонтиту є руйнування кісткової тканини альвеолярної кістки, яка утримує зуб. Тому відновлення втраченої кісткової тканини є одним з важливих завдань лікування генералізованого пародонтиту [298]. Успіх цього виду лікування істотно залежить від розуміння біологічних особливостей регенерації кісткової тканини, можливості відновлення структурно-функціональних особливостей ураженого пародонта, від виду застосованого лікування [37, 289].

Особливу увагу приділяють хірургічним методам, які дозволяють досягти ліквідації пародонтальних кишень, вогнища хронічного запалення, призупинити прогресування деструкції кістки альвеолярного відростку та забезпечити тривалу стабілізацію стану пародонта [3, 15]. Розроблені різні модифікації хірургічних втручань, проте вони не завжди дозволяють досягти ефективною ліквідації патологічного процесу і певного відновлення втрачених

кісткових структур альвеолярного відростка [136, 225].

Після проведення класичних методів хірургічного лікування генералізованого пародонтиту досягається репарація – виповнення операційної рани сполучною тканиною і частково кісткою, без повного відновлення структури пародонта. Ідеальною метою є регенерація втрачених тканин: кісткової тканини альвеолярного відростка, цементу зуба, волокон періодонта [46]. Цього намагаються досягти шляхом використання при проведенні хірургічних операцій різноманітних трансплантатів, найкраще остеоіндуктивних [44, 117]. Однак найкращі результати були досягнуті при застосуванні методу спрямованої тканинної регенерації (СТР) з використанням бар'єрних пародонтологічних мембран [22, 166, 284].

Як остеокондуктивні матеріали найбільш широкого використання у вітчизняній і світовій стоматологічній практиці здобули ксеногенні [24, 202] та синтетичні остеопластичні матеріали [61, 70, 248, 286]. Одним з таких матеріалів може виступати біоактивна кераміка [65].

Біокерамічні матеріали для пластики кісткових дефектів є досить перспективними внаслідок доволі легкої модифікації їх складу. Спрямована функціоналізація біокерміки, значно розширює її біоактивні, антисептичні, остеогенні та ангіогенні властивості. Цього досягають шляхом комбінації складових кераміки, широкої регуляції її фізико-хімічних властивостей під час синтезу, введення додаткових компонентів. Одним з таких механізмів є легування біокераміки іонами срібла та міді в різних концентраціях. Використання алопластичного матеріалу, який біодеградує, стимулює утворення нової кісткової тканини та має антимікробні властивості, відкриває нові можливості у лікуванні інфікованих кісткових порожнин [41, 95].

Одним з найбільш перспективних штучних матеріалів у цьому відношенні може бути вітчизняний біоактивний керамічний композит «Синтекість» [18, 30, 80]. Він відноситься до групи керамічних матеріалів: гідроксиапатиту, ортофосфатів кальцію, різних склокристалічних фаз,

розроблених в Інституті проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України під керівництвом доктора хімічних наук В.А. Дубка.

У процесах метаболізму і репарації тканин пародонта провідну роль відіграють основні компоненти міжклітинного матриксу – глікозаміноглікани (ГАГ). Проте, у літературі існують лише поодинокі дані про вплив біоматеріалів з препаратами сульфатованих глікозаміногліканів на перебіг післяопераційного періоду у пародонтологічних пацієнтів [45, 60, 66, 77, 282].

Перспективним представником цієї групи для комбінації з біоактивною керамікою є препарат «Алфлутоп», якому притаманна низка позитивних властивостей – протизапальна, знеболювальна та певна остеопластична дія [71].

Проведення досліджень, спрямованих на створення та вивчення біоактивних матеріалів і остеотропних композицій, які б мали близьку до кісткової тканини структуру, максимально знижені антигенні властивості, стійкість до впливу мікрофлори, тобто поєднували у собі остеокондуктивні, остеостимулювальні, антибактеріальні та інші біологічні властивості є актуальним завданням сучасної стоматології.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця виконаної згідно плану МОЗ України «Інноваційні підходи до діагностики та лікування захворювань твердих тканин зубів, пародонта та слизової оболонки порожнини рота», номер державної реєстрації 0114U001355. Здобувач є безпосереднім виконавцем окремого фрагменту досліджень зазначеної теми.

**Мета дослідження** – підвищення ефективності хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит шляхом експериментального та клінічного обґрунтування застосування остеопластичного біокерамічного композиту, легованого іонами срібла та міді, у поєднанні з препаратом

остеотропної дії при методиці спрямованої тканинної регенерації.

**Завдання дослідження:**

1. Обґрунтувати склад і розробити остеотропну біокерамічну композицію для хірургічного лікування генералізованого пародонтиту методом спрямованої тканинної регенерації.

2. Визначити фізико-хімічні властивості модифікованого біоактивного керамічного композиту та вплив на них додаткового легування окремих фаз кераміки.

3. Вивчити антибактеріальну дію біокерамічного композиту збагаченого іонами срібла та міді різної концентрації на тест-культури мікроорганізмів і змішану мікрофлору пародонтальних кишень.

4. Оцінити у культурі мезенхімальних стромальних клітин людини цитотоксичні властивості і біологічну сумісність модифікованого біокерамічного композиту залежно від концентрації іонів срібла та міді.

5. В експерименті на тваринах визначити вплив запропонованої остеотропної композиції на основі модифікованої біокераміки на процеси репаративної регенерації кісткової тканини щелепи.

6. На основі отриманих даних розробити і апробувати метод хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит шляхом використання запропонованої остеотропної композиції за техніки спрямованої тканинної регенерації.

7. Оцінити клінічну ефективність запропонованого методу хірургічного лікування генералізованого пародонтиту в найближчі та віддалені терміни спостережень.

**Об'єкт дослідження** – тканини пародонта і кісткова тканина альвеолярного відростка хворих на генералізований пародонтит II та III ступеня, кісткова тканина щелеп лабораторних тварин, біоактивний керамічний композит.

**Предмет дослідження** – вплив запропонованого біокерамічного композиту на процеси репаративної регенерації кісткової тканини і тканин



пародонта при хірургічному лікуванні генералізованого пародонтиту, фізико-хімічні властивості керамічного композиту, біосумісність, цитотоксичність і антибактеріальна дія модифікованої біокераміки, остеорепаративний процес кісткової тканини в експериментальних умовах у лабораторних тварин, клініко-рентгенологічні зміни тканин пародонта після кісткової пластики пародонтальних кишень.

**Методи дослідження:** клінічні (обстеження хворих на генералізований пародонтит) – для визначення стану тканин пародонта; рентгенологічні (у т.ч. комп'ютерна томографія) і остеометричні – для оцінки стану кісткової тканини альвеолярних відростків, планування і оцінки ефективності оперативного втручання; денситометричні – визначення щільності регенератів кісткової тканини; мікробіологічні – для аналізу антимікробних властивостей різних зразків керамічного композиту; цитологічні – вивчення та порівняльний аналіз цитотоксичності зразків біокераміки, легованої сріблом і міддю різної концентрації; експериментальні біохімічні та гістологічні – для визначення впливу модифікованого біокомпозиту на процеси регенерації експериментально відтвореного дефекту кістки щелепи лабораторних тварин; фізико-хімічні – вивчення фазового складу зразків кераміки, структури та поверхні керамічних гранул, визначення ступеню окислення іонів срібла та міді; статистичні – для оцінки вірогідності отриманих результатів дослідження.

Експериментальні та клінічні дослідження проведено з дотриманням біоетичних норм (протокол засідання Комісії з питань етики НМУ імені О.О. Богомольця № 82 від 08.10.2014 року).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше теоретично та експериментально обґрунтовано можливість застосування модифікованого біокерамічного композиту легованого іонами срібла та міді для пластики дефектів кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп.

Вперше в експерименті *in vitro* доведено антибактеріальні властивості керамічного композиту, легованого різними концентраціями срібла та міді до

тестових штамів мікроорганізмів і змішаної мікрофлори пародонтальних кишень. Показано залежність вираженості та характеру антибактеріальної дії біокераміки (бактерицидна або бактеріостатична дія) від концентрації срібла та міді, типу мікроорганізмів і структури керамічного матеріалу (розмір гранул). Вперше проведено порівняльний аналіз антибактеріальних властивостей біокерамічного композиту легованого сріблом і міддю й остеопластичних матеріалів, до складу яких уведені антисептичні речовини і антибіотики.

Вперше у клітинній культурі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини людини тестами прямої та непрямой цитотоксичності визначено оптимальні концентрації іонів срібла та міді у структурі біокераміки, які не перешкоджають проліферації та адгезії клітинних елементів. Визначено, що в межах цих концентрацій виділення зазначених іонів у зовнішнє середовище не впливає на біосумісність кераміки.

На експериментальній моделі кісткового дефекту нижньої щелепи у лабораторних тварин на підставі визначення біохімічних маркерів обміну кісткової тканини та патогістологічного дослідження вперше продемонстровано остеостимулювальну дію алфлутоповмісної композиції на основі легової сріблом і міддю біоактивної кераміки. Обґрунтовано відсутність негативної дії компонентів кераміки у межах визначеної їх кількості на перебіг остеорепаративного процесу.

Клініко-експериментальними дослідженнями доведено можливість використання запропонованої остеотропної композиції на основі біокераміки як остеопластичний матеріал при хірургічному лікуванні хворих на генералізований пародонтит методом спрямованої тканинної регенерації. Підтверджено ефективність запропонованої методики хірургічного лікування кісткових пародонтальних кишень у найближчі та віддалені терміни спостережень.

На підставі результатів досліджень обґрунтовано можливість

застосування запропонованої модифікації біоактивної кераміки й остеотропної композиції на її основі при проведенні клаптевих операцій у хворих на генералізований пародонтит.

**Практичне значення одержаних результатів.** Для практичного застосування запропоновано новий алопластичний матеріал для пластики кісткових дефектів на основі кальцій-фосфатної кераміки з мультифункціональними властивостями: багатофазність, біосумісність, остеостимулювальна дія, покращення біотрансформаційних показників і пригнічення бактеріальної мікрофлори. Фізико-хімічні властивості біокомпозиту відповідають вимогам до остеопластичних матеріалів і дозволяють розглядати його у вигляді носія клітинних елементів, при виготовленні тканинно-інженерних конструкцій, для потреб регенераторної медицини.

На підставі проведених біохімічних, гістологічних, мікробіологічних досліджень і тестів на цитотоксичність обґрунтований склад остеотропної композиції для заміщення пародонтальних дефектів. Розроблений і впроваджений у практику новий спосіб хірургічного лікування пародонтальних кісткових кишень, який дозволяє підвищити ефективність хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит.

Результати наукових положень, клінічних та експериментальних розробок дисертаційного дослідження запроваджено у навчальний процес кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Розроблений метод хірургічного лікування внутрішньокісткових пародонтальних кишень у хворих на генералізований пародонтит, II та III ступеня, апробовано і запроваджено у практичну діяльність Стоматологічного медичного центру Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (м. Київ), Державного закладу «Центральна стоматологічна поліклініка Міністерства охорони здоров'я України» (м. Київ), Інституту стоматології НАМН України (м. Одеса), Центру стоматології Університетської клініки ІФНМУ (м. Івано-Франківськ).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням автора, виконаним на кафедрі терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця під керівництвом доктора медичних наук, професора А.В. Борисенка. Здобувачем спільно з науковим керівником обрано й обґрунтовано напрям наукового дослідження й його обсяг, визначено мету і завдання дослідження, наукову новизну, практичне значення отриманих результатів, сформульовані висновки та розроблені практичні рекомендації. Автор виконав патентно-інформаційний пошук, здійснив аналіз літературних джерел за визначеною темою. Особисто автором проведено клінічне обстеження та хірургічне лікування хворих на генералізований пародонтит, статистична обробка отриманих даних, аналіз і узагальнення результатів клінічних, рентгенологічних, експериментальних і лабораторних досліджень. Дисертант безпосередньо брав участь у розробці та впровадженні нової методики хірургічного лікування пародонтиту, модифікації багатокомпонентної кераміки для кісткової пластики, способу рентгенологічної остеоденситометрії міжкоміркових перегородок альвеолярних відростків щелеп. Самостійно написані усі розділи дисертації і автореферат, наукові доповіді, публікації. Спільно з науковим керівником забезпечено впровадження результатів дисертаційної роботи у клінічну практику та навчальний процес.

Фізико-хімічні дослідження (растрова і трансмісійна електронна мікроскопія, рентгенодифракційний аналіз, атомно-емісійна спектроскопія та фотоелектронна спектрометрія) здобувачем проведено на відповідних базах Інституту проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України та Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Мікробіологічні дослідження виконано спільно із співробітниками кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (зав. каф. – академік НАН та НАМН України, д.мед.н., проф. В.П. Ширококов). Цитологічні дослідження,

відповідно до тестів оцінки цитотоксичності, здійснено із співробітниками лабораторії експериментального моделювання відділу клітинних та тканинних технологій ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України». Біохімічні дослідження проведено автором разом із співробітниками лабораторії біохімії та віварію ДУ «Інститут стоматології НАМН України» (завідуючий – член-кор. НААН України, д.біол.н., професор А.П. Левицький). Інтерпретацію патогістологічних даних здійснено на базі лабораторії патоморфології та імунології ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» (завідувач – д.мед.н., професор В.В. Віт). Клініко-рентгенологічні дослідження проведено на кафедрі терапевтичної стоматології (зав. каф. – д.мед.н., професор А.В. Борисенко) Національного медичного університету імені О.О. Богомольця та на базах відділень променевої діагностики Стоматологічного медичного центру НМУ і дитячої клінічної лікарні № 7 Печерського району м. Києва.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати досліджень викладено і обговорено на: науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Youth NanoBiotech – 2013, 2014, 2015. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» (м. Київ, 2013, 2014, 2015), міжнародному симпозіумі E-MRS (European Materials Research Society) 2014 Fall meeting (м. Варшава, 2014), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Регенеративна пародонтологія сучасність і майбутнє» (м. Київ, 2015), дискусійному клубі Асоціації лікарів-пародонтологів України: «Пародонтологічні зустрічі наукової молоді: наука-практиці...» (м. Київ, 2015), міжнародній науково-практичній конференції «Клітинна терапія і тканинна біоінженерія в стоматології» (м. Одеса, 2015).

Дисертаційну роботу апробовано на засіданні кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця і на засіданні апробаційної міжкафедральної ради «Стоматологія» та профільних кафедр стоматологічного факультету Національного медичного

університету імені О.О. Богомольця.

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць, у тому числі 5 у вітчизняних фахових виданнях рекомендованих ДАК МОН України, 2 – у зарубіжних, одна з яких у міжнародному, 4 – у вигляді тез у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, симпозіумів. Отримано 3 патенти України на корисну модель.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел. Дисертацію викладено на 221 сторінках друкованого тексту, ілюстровано 20 таблицями та 52 рисунками. Список використаних джерел літератури містить 319 джерел, з них 68 вітчизняних і 251 зарубіжних публікацій (105 – кирилицею, 214 – латиницею).

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### **1.1. Реконструктивне хірургічне лікування генералізованого пародонтиту, проблема регенерації та сучасні тенденції її вирішення**

Основними критеріями успішного лікування генералізованого пародонтиту є усунення проявів запалення, травматичної оклюзії та пародонтальних кишень. Найефективніше останнє досягається застосуванням хірургічних методів лікування [21, 34, 98, 153]. З цією метою застосовують різні види кюретажу та гінгівектомій, клаптеві операції [43, 225].

Найбільш ранньою формою хірургічного лікування стала резекційна техніка, за якої надмірно видаляли кісткову тканину в ділянці пародонтальних кишень. Одним з варіантів такої техніки є радикальна гінгівектомія за якої поряд з висіченням м'яко-тканинної складової пародонтальних кишень нівелювали кістку альвеолярних відростків. З часом ряд експериментальних досліджень і клінічна практика показала хибність такого підходу. Було продемонстровано, що кісткова тканина здатна до відновлення в межах кишень та ніяким чином некротично не змінена, як вважалось раніше. На заміну цим підходам були запропоновані клаптеві операції, започатковані L. Widman, R. Neumann та A. Cieszynski (1918–1920) [153]. За цих операцій формують слизово-окістні клапті, що дають можливість візуалізації внутрішньокісткового компонента пародонтальних кишень та адекватного видалення грануляційної тканини, під'ясених зубних відкладень, багат шарового епітелію, що вростає. Незадовільні клінічні результати насамперед за рахунок косметичних дефектів і вираженої рецесії ясен у післяопераційному періоді спонукали до пошуку альтернативних варіантів. Були запропоновані численні модифікації класичної техніки формування клаптів: модифікований клапоть Відмана, коронарно та

латерально переміщений клапоть, клапоть без переміщення, розщеплений клапоть тощо [43]. Однак з часом навіть за такого лікування була показана можливість репаративної регенерації кісткової тканини, втраченою у результаті генералізованого пародонтита [166]. Найбільш ефективно цього досягають за рахунок використання, так званих, остеопластичних матеріалів. Резекційний підхід став витіснятися регенеративною концепцією [154, 177].

Усі матеріали для відновлення тканин пародонта за походженням прийнято поділяти на автогенні, аlogenні, ксеногенні та алопластичні (синтетичні). Алопластичні матеріали, у свою чергу, поділяють на матеріали, що зазнають повної або частковій резорбції та групу матеріалів, що не резорбуються [83].

Згідно іншої класифікації, яка ґрунтується на вираженості остеогенного потенціалу, ці матеріали поділяють на: остеоіндуктивні; остеокондуктивні; остеонейтральні та матеріали, що використовуються для спрямованої кісткової та тканинної регенерації [68].

До остеоіндуктивних матеріалів відносять – автотрансплантати (внутрішньо- та зовнішньоротового походження) і алоімплантати (алогенну свіжезаморожену, алогенну демінералізовану ліофілізовану та алогенну ліофілізовану кістку). До остеокондуктивних матеріалів – аlogenні, ксеногенні та деякі види синтетичних матеріалів. До остеонейтральних – щільні або непористі зразки кальцій-фосфатної кераміки, аморфну склокераміку, алюміній- та титановмісну кераміку тощо [46].

У 1973 році Р.І. Воупе розробив і сформулював парадигму, згідно якої ідеальний остеопластичний матеріал для пародонтологічних потреб, повинен відповідати низці вимог – бути доступним у необхідній кількості, сприяти ревазуляризації ділянки дефекту, мати високий остеоіндуктивний потенціал, володіти остеокондуктивними властивостями, не потребувати додаткового хірургічного втручання у донорській ділянці з метою його отримання та не перешкоджати утворенню кісткової тканини [150]. Е.С. Сосен (2011) до цих матеріалів висуває ряд додаткових вимог: відсутність антигенних



властивостей; стійкість до впливу мікроорганізмів; уникнення резорбції кореня зуба; міцність та еластичність, легка адаптація до тривимірної структури кісткової кишені; стимулювання утворення нового прикріплення, остеогенез, цементогенез та формування функціонально спроможної періодонтальної зв'язки, з попередженням апікальної проліферації довгого епітелію прикріплення [46].

Первинно як остеопластичний матеріал застосували аутологічну кістку, яка має низку позитивних якостей [260]. Пропонували використовувати кістковий згусток отриманий шляхом змішування кісткової стружки з кров'ю пацієнта в стерильній посудині [276]. Згодом, була запропонована кісткова суміш [185], проте вона мала певні недоліки – здатність до секвестрація, бактеріальна контамінація тощо [118]. Кісткові трансплантати отримують із різних ділянок тіла людини. Виділяють внутрішньоротові (кісткові екзостози, беззубі ділянки щелеп, горб верхньої щелепи тощо) та позаротові (гребінь клубової кістки, проксимальний епіфіз великогомілкової кістки тощо) джерела [279].

Гістологічними дослідженнями показано можливість аутогенного трансплантату утворювати нове сполучнотканинне прикріплення [308], особливо при застосуванні техніки СТР [259]. Кістковий матеріал може бути застосований разом із збагаченою тромбоцитами плазмою [170] і автотрансплантатом періодонтальної зв'язки [108].

Проте кількість донорської тканини обмежена, особливо за внутрішньоротових джерел [153], вона демонструє непередбачувану швидкість резорбції [289]. Процедури забору кістки потребують додаткового хірургічного втручання, можлива бактеріальна контамінація автотрансплантатів [243]. A.L. Dumitrescu (2011) приходять до висновку, що цей тип матеріалів не може бути використаний за рутинного пародонтологічного лікування у випадках генералізованого пародонтиту із залученням великої кількості зубів і значних кісткових кишень [185].

Варіантом заміни донорської кістки є алогенні трансплантати: трупна

кістка [5], її osteoіндуктивна чи osteoкондуктивна властивість залежить від способу обробки при виготовленні [46].

Як альтернатива автогенної кістки були запропоновані алогенні матеріали: алоімпланти демінералізованої кістки та ліофілізованої кістки. Хоча osteoстимулювальний потенціал формалізованих і ліофілізованих алогенних біоматеріалів є слабшим, ніж демінералізованого кісткового імплантату [72].

Алогенні матеріали широко і досить ефективно застосовують у пародонтології [195]. Їх можна комбінувати з ГАГ [50, 53], факторами росту, гідроксиапатитом [10]. Проте ці матеріали можуть слугувати антигенами та володіти слабким osteoстимулювальним ефектом [70]. Виникають труднощі не тільки при отриманні, але й при зберіганні біоімплантатів, що вимагає створення спеціальних тканинних банків.

Вважається, що osteoіндуктивний потенціал алогенних матеріалів залежить від віку донорів, термінів забору тканин, температури зберігання, методів консервації [146]. Лабораторії-виробники алоімплантатів, які не враховують вищезгаданих особливостей, пропонують матеріал з різним та нефіксованим рівнем osteoпотенціалу, що ускладнює позитивний прогноз майбутньої операції.

Досить відомими представниками цієї групи матеріалів є «AlloGro» (AlloSource, США), «Tutoplast» (Tutogen Medical GmbH, Німеччина) тощо [172, 153]. На даний момент у світі виконано більш, ніж 1 млн. операцій із використанням біоімплантатів алогенного походження.

До наступної групи біоматеріалів – ксеногенних – належать препарати тваринного походження. Вони проходять спеціальну обробку – депротейнізацію, в результаті чого усувається антигенна дія матеріалу. Оскільки одним з найпроблемніших аспектів у застосуванні ксеноімплантації є імунологічна несумісність та, як наслідок, – відторгнення матеріалу [68].

Ксеногенні osteoplastичні матеріали поділяють за методом виготовлення: з використанням високих температур («OsteoGraf/N», Dentsply

Int., США); низьких температур («Bio-Oss», Giestlich, Швейцарія); ензимних технологій («Bio-Gen», «Osteoxenon» (Bioteck, Італія), «Gen-Os» (OsteoBiol, Італія). До натуральних гідроксиапатитів належать також матеріали коралового походження: «Orthoss» (Giestlich, Швейцарія). Ці матеріали мають виражену остеокондуктивну дію [291].

Однак, за рахунок збереження певних білкових компонентів вони можуть мати і остеоіндуктивну дію [157]. О.І. Грудянов зі співавт. (2001) досліджуючи білкові фракції, що залишилися після демінералізації, під час виготовлення біоматеріалу «Bio-Oss», виявили наявність таких факторів росту як трансформуючий фактор росту – бета (TGF- $\beta$ ) та кісткового морфогенетичного білка (BMP-2) [24].

Але, незважаючи на позитивні властивості цих засобів та їх широке практичне застосування, навіть ретельна обробка матеріалів тваринного походження теоретично не виключає ризику переносу пріонів [202].

Альтернативою в остеопластиці стало використання синтетичних матеріалів [25, 289]. Їх поділяють на: неорганічні та органічні матеріали. Серед неорганічних виділяють – синтетичний гідроксиапатит («OsteoGraf/LD» Dentsply Int., США);  $\alpha$ -,  $\beta$ -трикальційфосфат («Cerasorb» Curasan AG, Німечина; «BioResorb» ImplantDirect, США; «Poresorb TCP» Osteoplant, Польща; «Calc-i-Oss», «EasyGraft» Guidor, Швейцарія); біоактивне скло («PerioGlass» Block Drug Company, США; «BioGran» Orthovita, ЗІ, США); сульфат кальцію («Capset» Lifecore, США; «Сурджипластир» Classimplant, Італія); карбонат кальцію тощо. Органічні матеріали включають різноманітні продукти на основі синтетичних полімерів («Фізіографт», «Гіалос-Матрикс», «НТР-полімер», «Етісорб» тощо).

Гідроксиапатитна кераміка наявна у двох видах – здатна до резорбції («OsteoGraf/LD»; «Кергап», «Биомин», Україна) та не здатна до резорбції («OsteoGraf/D», «Perma Ridge», США). Разом із синтетичним гідроксиапатитом (ГАП),  $\alpha$ -,  $\beta$ -трикальційфосфат (ТКФ), біоактивне скло (БС) та сульфат кальцію також об'єднують під загальною назвою

«біокераміка». Досить поширеним стало використання комбінацій фаз кальцій-фосфатних керамік з утворенням двофазної кераміки («Calc-i-Oss Cristal», «EasyGraft Cristal» Guidor, Швейцарія).

Синтетичний ГАП є аналогом основного компонента неорганічного матриксу кістки, а біокераміки беруть активну участь в іонному обміні, забезпечують адгезію кісткових клітин і білків, мають остеокондуктивні властивості [217, 316]. Вони не викликають імунної відповіді та при взаємодії з біологічними тканинами здатні до поступової резорбції та заміщення кістковою тканиною. Характерною особливістю цих матеріалів є їх сумісність з мінералізованими тканинами організму [181].

Біокераміки використовують самостійно [189, 204, 297] чи у комбінації з іншими остеопластичними матеріалами [42, 205], тромбоцитарними концентратами [63, 89, 104], пародонтологічними мембранами [175, 250] та як носії стовбурових клітин [105].

Проте і біокерамічні матеріали мають низку недоліків, виготовляючись за рахунок спікання порошкоподібних фосфатів кальцію, стають твердими та нееластичними які у свою чергу не сприяють швидкій інтеграції із кістковою тканиною [2]. Тому пошук нових різновидів матеріалів є актуальним.

Запропоновані до використання високоочищений колаген у поєднанні з сульфатованими ГАГ [47], демінералізований кістковий матрикс з гіалуроновою кислотою («DBX»), ГАП з ТКФ і колагеном («Коллапол»), ГАП з колагеном («КоллапАн»), автотрансплантат з «Bio-Oss» [210]. Такі комбінації матеріалів показали себе більш ефективними [81].

Важливу роль у процесі загоєння тканини пародонта відводять тромбоцитам. При активації тромбоцитів, з їх протоплазми вимиваються білки, такі як – фібриноген, фібриноектин та вітронектин. У той же самий час виділяються численні фактори росту та цитокіни, включаючи: TGF- $\beta$ , тромбоцитарний фактор росту (PDGF), інсуліноподібний фактор росту (IGF); фактор стимулюючий формування ендотелію судин (VEGF); основний фактор росту, що стимулює фібробласти (bFGF); фактор-4 активації

тромбоцитів (PAF-4) та інші [196].

З кінця 90-х років з'явилися нові технологічні розробки, що дозволяють отримувати препарати, збагачені тромбоцитами. Вони спрямовані на покращення регенераторних властивостей тканин шляхом збільшення кількості біологічних факторів, що знаходяться в тромбоцитах у ділянках ураження [35].

Препарати тромбоцитарних концентратів поділяють на чотири групи [159].

Перша група, чиста плазма збагачена тромбоцитами (P-PRP) або вільна від лейкоцитів плазма збагачена на тромбоцити з низькою щільністю фібринової сітки після активації. Найбільш розповсюджена технологія отримання P-PRP є комерційний продукт PRGF (плазма насичена факторами росту або EndoRet, Biotechnology Institute ВТІ, Іспанія), що вже знайшла своє застосування в хірургічній стоматології [239], продукт Vivostat PRF тощо.

Друга група, плазма збагачена тромбоцитами та лейкоцитами (L-PRP) – препарати плазми виготовлені з лейкоцитами та низькою щільністю фібринової сітки після активації. Найбільш розповсюджені комерційні представники цієї технології – «Smart-PreP» (Harvest Tech., США), «GPS III» (Biomet, США), «Plateltex» (Прага, Чехія), «Regen PRP» (RegenLab, Швейцарія).

Третя група, чиста плазма збагачена фібрином (P-PRF) – препарати плазми з елімінованою фракцією лейкоцитів та високою щільністю фібринової сітки після активації: «Fibrinet PRFM» (збагачений тромбоцитами фібриновий матрикс, Cascade Medical, США).

Четверта група, плазма збагачена фібрином і лейкоцитарною фракцією (L-PRF). Такі препарати застосовують у щільному вигляді здебільшого у якості бар'єрних мембран [312]. Представник – «Spin L-PRF» (Intra-Lock Inc., США).

Визначено, що фібринова мембрана залишається інтактною протягом 7 діб інкубації виділяючи значну кількість факторів росту [290]. На противагу,

PRP гель виділяє значну кількість факторів росту у перші години та повністю розчиняється в ростовому середовищі за 3 дні, навіть за максимальної штучної полімеризації.

Деякі фактори росту присутні в тромбоцитах, такі як PDGF та TGF- $\beta$ , продемонстрували здатність до стимуляції проліферації остеобластів [304]. Препарати з тромбоцитарних концентратів сприяють кістковій репарації, як *in vitro* так і *in vivo*, за рахунок вираженої проостеогенної та ангіогенної функцій ендотеліальних клітин, збільшення попередників остеобластів і експресії остеопротегерину (*osteoprotegerin*), що в присутності фактора IGF інгібує проостеолітичну активність [193]. Фактор VEGF демонструє ангіогенний ефект, забезпечуючи киснем і поживними речовинами тканини. Важливо зазначити, що комбінація цих факторів росту спричиняє синергічний ефект на кісткову регенерацію.

Їх застосування у комбінації з остеопластичними матеріалами [263] та бар'єрними мембранами [221] показало високу ефективність та перспективність у хірургічному лікуванні пародонтиту.

У 1976 році після ряду лабораторних досліджень А.Н. Melcher запропонував базову концепцію, що невдовзі призвела до розвитку нової клінічної методики лікування пародонтиту – спрямованої регенерації тканини [242].

Він припустив, що клітини, які заселяють поверхню кореня після пародонтологічного хірургічного лікування визначають тип прикріплення, що формується на цій поверхні. Подальші дослідження на тваринах довели різні типи загоєння тканин пародонта у разі контакту різних тканин пародонта з поверхнею кореня зуба. За цих та інших досліджень [177, 310] концепція СТР стала заключати використання бар'єрної мембрани для селективної клітинної репопуляції на поверхні кореня, таким чином сприяти регенерації пародонта. У людей гістологічні свідчення утворення нового сполучнотканинного прикріплення використовуючи методику СТР, вперше було продемонстровано у 1982 році [252]. Усі пародонтологічні мембрани

поділяють на мембрани, які не резорбуються і мембрани, які резорбуються. Найбільш широко для мембран почали використовували пористий політетрафторетілен (ePTFE) або тефлон [177]. Згодом з метою укріплення тефлонових мембран почали застосовувати титанові сітки, що сприяло кращому підтриманню простору при ретракції м'яких тканин [83]. Використання мембран, що не піддаються резорбції потребує додаткового втручання для їх видалення, а можлива рання експозиція призводить до погіршення результативності лікування [109].

Мембрани, що резорбуються поділяють на колагенові та синтетичні – в основному з комбінації співполімерів (гліколевої та молочної кислоти): мембрана «Resolut» (WL Gore, США), «Atrisorb» (Atrix Laboratories Inc., Франція) тощо. Показано задовільні результати їх застосування [161] та певні недоліки [259]. Мембрани, що мають тривимірний каркас на основі кополімерів лактиду та гліколіду показали кращі клінічні результати. Такий пористий каркас сприяє цементобаластній мінералізації та не має токсичних впливів на інші клітини [155].

Мембрани на основі комбінації полілактиду та полігліколіду (Inion Oy, Фінляндія) мають м'яку консистенцію, що стає жорсткою у пародонтальній рані [262]. G.R. Owen зі співавт. (2010) запропонували нову форму плівки виготовлену з діблокового співполімера молочної та гліколевої кислот [123]. Ця плівка еластична при кімнатній температурі та температурі людського тіла, зручна при маніпулюванні, проте набухає і застигає при контакті з водою, що пригнічує епітеліальну та сполучнотканинну міграцію.

У 2010 році був запропонований поліетиленгліколевий гель «Membragel» (Straumann AG, Швейцарія). Його наносять у рідкому вигляді на остеопластичний матеріал і за декілька хвилин він полімеризується [115].

Останнім часом широко застосовують колагенові мембрани, наприклад, «Bio-Gide» (Geistlich, Швейцарія). Її виготовляють із свинячого колагену I та III типів і вона має високу біосумісність. Біорезорбція цієї мембрани проходить протягом 4–6 місяців, без утворення шкідливих для організму сполук.

З метою підвищення жорсткості – шляхом хімічного зшивання шарів колагену – виготовлені мембрани «Ossix» (Biomet 3i, США) та «BioMend» (Zimmer, США). Однак за клінічного використання вони показали ряд недоліків і поступалися класичним колагеновим мембранам [142].

Серед мембран алогенного походження запропонований безклітинний дермальний матрикс «Alloderm» (Biohorizons, США), як імплантаційний матеріал і мембрани, перикардіальна мембрана «Tutoplast». За будовою вони нагадують структуру колагену, однак, значна товщина таких мембран не дозволяє застосовувати їх за рутинного пародонтологічного лікування. С.Г. Безруков зі співавт. (2011) запропонував використовувати суміш алогенної твердої мозкової оболонки та ТКФ кераміки як остеопластичний матеріал [3].

Перспективним є застосування хітозану: полісахариду з кополімеру глюкозаміну та N-ацетилглюкозаміну [265]. Мембрани, що містять хітозан, мають гарну біосумісність, задовільну швидкість резорбції, гемостатичну активність, бактеріостатичні властивості щодо *A. actinomycetemcomitans* та *Str. mutans* [158]. Хітозан-колагенова губка ефективно стимулює репаративну регенерацію пародонта [213].

Проведеними дослідженнями показано відсутність суттєвої різниці в утворенні нового рівня прикріплення тканин пародонта між мембранами, що не резорбуються та тими, що зазнають резорбції [261].

Є дані про успішне використання у пародонтологічній практиці автологічного окістя, яке має високу біологічну сумісність [199, 258]. Окістя складається з фібробластів, що забезпечують прикріплення до м'якої тканини та внутрішньої камбіальної ділянки, що містить недиференційовані мезенхімальні та остеопрогеніторні клітини [294]. За специфічних впливів періостальні клітини продукують міжклітинний матрикс і формують мембранну структуру, що бере участь у формуванні кісткової тканини [113].

Використання автологічного окістя ефективно при лікуванні пародонтальних фуркаційних дефектів [121], пародонтальних кишень [199,



258], рецесії ясен [238].

Поряд з позитивними властивостями необхідність додаткового втручання для забору матеріалу обмежує використання цього методу. Враховуючи це С. Saimbi зі співавт. (2014) запропонували нову техніку трансплантації окістя – зі слизово-окістного клаптя [281]. В іншому дослідженні була використана періостальна мембрана у комбінації з остеопластичним матеріалом: двофазною кальцій-фосфатною керамікою [229].

Переважає кількість досліджень вказує на суттєві переваги використання комбінації бар'єрних мембран та остеопластичних матеріалів, проте є і протилежна точка зору [198].

Імітація фізіологічних процесів, які відбуваються у процесі формування кореневої системи зуба та тканин пародонта стала обґрунтуванням розвитку технології «Emdogain®» для потреб репаративної регенерації пародонта [224]. До складу біопрепарату «Emdogain» (Straumann, Швейцарія) входить набір ксеногенних білкових сполук – складових емалевої матриці свинячих зубних фолікулів. Визначена здатність цього матеріалу впливати на специфічні властивості клітин періодонтальної зв'язки *in vitro*, як міграція, прикріплення, проліферація, пластична активність і формування вузлів мінералізації [190].

Клінічні дослідження показали істотне пониження глибини пародонтальних кишень, підвищення рівня прикріплення та заповнення кісткового дефекту при застосуванні «Emdogain» під час хірургічного лікування пародонтиту [302, 317].

Отримані результати застосування білків емалевої матриці не відрізняються від отриманих за допомогою методу спрямованої тканинної регенерації [302]. Однак вони покращують клінічні результати лікування при використанні у комбінації з аутологічною кісткою [207], ксеногеним і кальцій-фосфатним остеопластичним матеріалом [179], біоактивним склом [230], автотромбоцитарним концентратом [100], ін'єкційним остеопластичним кальцій-фосфатним цементом [270] і бар'єрними мембранами [106].

Істотно зміна цих парадигм відбувається зі застосуванням мікроінвазивних хірургічних технік [171]. За цієї техніки обережне поводження з тканинами пародонтальної рани створює оптимальні умови для загоєння пародонту, підтверджуючи відсутність у необхідності застосування додаткових матеріалів. Відмічено високу ефективність такого хірургічного лікування при незначній глибині пародонтальних кишень [165]. На противагу, як повідомлялось пізніше, відсутність підтримуючого остеопластичного матеріалу веде до ризику утворення рецесії ясен за такої хірургічної техніки [271].

На підвищення рівня клінічного прикріплення та заповнення кісткового дефекту впливає ціла низка важливих факторів [185, 198, 279, 298]. Дослідження, котрі доводять формування нового прикріплення при використанні мембран для спрямованої регенерації тканин і кісткових заміників, далеко не завжди гістологічно підтверджують формування кістки. Незадовільні наслідки репаративної регенерації обумовлені особливістю анатомії пародонтального дефекту, віком хворого, зниженою здатністю тканин до відновлення і, не в останню чергу, персистенцією пародонтопатогенної мікрофлори [227].

Використання відновних методів лікування найбільш ефективно лише при усуненні внутрішньокісткових кишень і залежить від їх топографії та кількості збережених кісткових стінок [46].

При застосуванні СТР слід зважати на можливість мікробної контамінації з дна кишені самої мембрани [187, 313]. Цей фактор суттєво впливає на ефективність хірургічного лікування. Переконаливо продемонстровано негативний зв'язок між результатами лікування та присутністю умовно-патогенної мікрофлори у місцях репарації, чи у ротовій порожнині пацієнтів до, під час та після хірургічного лікування [244].

Н. Nowzari зі співавт. (1996) оцінили взаємовідношення між присутністю колоній бактерій на поверхні політетрафторетиленової мембрани, що обернена до поверхні зуба, та клінічними наслідками

пародонтологічного лікування [305]. Присутність ідентифікованої *P. gingivalis* уже через 3 хвилини після початку маніпуляцій з мембраною понижує на 1,5 мм очікуваний приріст тканин, що відновлюються. Збільшення мікробних колоній в середній частині мембран знижує потенціальний приріст прикріплення майже на 45% [173].

Використання остеопластичних матеріалів з локальним вмістом антибіотиків покращує клінічні результати лікування [64, 176]. Проте застосування антибіотиків призводить до появи резистентних штамів [97, 101]. Це спонукає до пошуку більш універсальних протимікробних засобів у складі тих же остеопластичних матеріалів.

Для зменшення кількості бактеріального навантаження та ендотоксинів запропонована біомеханічна обробка коренів зубів під час оперативного втручання [149]. Використовують аплікації лимонної (рН 1,0) або ортофосфорної кислоти, ЕДТА та тетрацикліну гідрохлориду (у концентрації 100 мг/мл), з витримкою у 2–3 хвилини [241]. Демінералізація поверхні кореня поліпшує зв'язування з нею протеїнів, сприяє прикріпленню фібробластів та колагенових волокон [34]. Оброблення поверхні кореня хіміотерапевтичними засобами сприяє цементогенезу та остеогенезу [143]. Таким чином, відповідна біомеханічна обробка поверхні кореня забезпечує не лише проліферацію клітин і відкладання білкового матриксу, але й поліпшує міцність адгезії відновлених тканин до обробленої поверхні.

Фактори, що обмежують початковий регенеративний потенціал пародонта тільки починають ставати зрозумілими. D.P. Dickinson зі співавт. (2013) використовуючи модель критичних дефектів альвеолярного відростку ідентифікували прорегенараторні (зі сторони перідонтальної зв'язки та кісткового мозку) та прорубцеві (зі сторони ясен) домінанти, що конкурують у заміщенні простору рани. На їх думку, саме ефект від взаємодії цих місцевих та загальних чинників визначає, яка частина початкового регенеративного потенціалу буде реалізована [197].

C. Susin та U.M. Wikesjö (2013) аналізуючи клінічні та експериментальні

дослідження за останні 30 років прийшли до висновків, що: 1) тканини пародонта мають значний регенераторний потенціал, проте він знижується під дією місцевих і загальних чинників; 2) утворення довгого епітелію прикріплення не є обов'язковим наслідком лікування та здебільшого є показником саме порушення загоєння; 3) загоєння рани первинним натягом, забезпечення стабільності у рані залишається важливими, проте не завжди достатніми для досягнення високого потенціалу у регенерації пародонта; 4) регенерація тканин пародонта виникає в межах 4 тижнів, проте стабілізація процесу займає довший період часу; 5) стиснення тканин сприяє деякому додатковому регенераторному потенціалу, але підвищує ймовірність до порушення загоєння; 6) різноманітні біоматеріали для кісткової пластики самі по собі навряд чи забезпечують необхідні умови для регенерації пародонта; 7) остеопластичні матеріали та бар'єрні мембрани можуть бути використані для подолання місцевих стримуючих репаративну регенерацію факторів, однак вони самі ставлять під загрозу загоєння рани; 8) використання біологічних факторів росту здається привабливим у полегшенні протидії негативним місцевим і загальним факторам при відновленні тканин пародонта [298].

**Висновок.** Для хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит запропоновано значну кількість методів і технік оперативного втручання. На сьогодні, найбільш уживаним став регенераторний підхід, що увібрав у себе здобутки використання біологічних чинників (факторів росту, емалевих протеїнів, різноманітних поліпептидів тощо), біоматеріалів і клітинних технологій. Між тим багатофакторність етіології, складність патогенезу, наявність дисбалансу між дією зовнішніх і внутрішніх чинників та постійно персистуюча мікрофлора в пародонтальних кишнях створює перепони для успішної репаративної регенерації тканин у ділянці пародонтальних кишень.

Вбачається, що зведення до мінімуму травматичності операційних технік, усунення додаткового антигенного навантаження, використання

біологічних факторів та новітніх остеопластичних матеріалів – це шляхи оптимізації хірургічного лікування пародонтиту у майбутньому. Саме сукупність факторів, що покращують плин регенераторного процесу може створити необхідні умови для повного відновлення утрачених тканин. Таким чином, залишається перспективним розробка та впровадження біомедичних матеріалів, в яких поєднуються остеостимулювальна дія спеціально функціоналізованої біоактивної кераміки з антибактеріальним впливом.

## **1.2. Використання глікозаміногліканів як стимуляторів репаративної регенерації тканин пародонта**

Суттєву роль у біохімії тканин пародонта шляхом взаємодії та метаболічної регуляції різних типів тканин і клітин відіграє міжклітинний матрикс [309]. Його основними структурними елементами є фібробласти, які синтезують колаген та інші компоненти матриксу. Серед них є протеоглікани, ковалентно зв'язані з довгими, не розгалуженими ланцюгами сульфатованих глікозаміногліканів (сГАГ). Сульфатація частини ланцюгів сГАГ забезпечує зв'язування біоактивних молекул, таких як фактори росту та диференціювання [49].

Найбільш відомий представник кислих ГАГ це гіалуронова кислота. Вона має високу в'язкість, що надає тканинам щільності та стійкості до зовнішнього подразнення. Її захисний ефект проявляється у властивості приєднувати активні компоненти хімічних речовин і токсинів [79]. Пародонтопатогенні бактерії викликають розщеплення гіалуронової кислоти ферментом гіалуронідазою, що призводить до ушкодження тканин. Проте, продукти її біодеградації (олігосахариди та низькомолекулярні гіалуронати) проявляють проангіогенні властивості [191]. Молекулярна структура гіалуронової кислоти зв'язує воду, специфічні білки, подавляє процес запалення, регулює проникність клітин, зменшуючи проникність капілярної стінки [91].

Враховуючи такі позитивні властивості її препарати застосовують для

лікування захворювань пародонта. Г.Ф. Білоклицка зі співавт. (2011) успішно використовували препарат «Генгигель» [4]. S. Eick зі співавт. (2013) – гель з гіалуроновою кислотою [212].

Серед сГАГ, які входять до складу низки білкових структур матриксу, виділяють: хондроїтин 4-, 6-сульфат, дерматансульфат і гепарансульфат [231].

Епітеліальні клітини ясенної борозни синтезують міжклітинний матрикс, що включає колаген IV типу, протеоглікани (хондроїтин та гепарансульфати) і глікопротеїн ламінін [228]. Ці компоненти базальної мембрани виконують роль своєрідного захисного бар'єру для стромы пародонта та безпосередньо беруть участь у його репарації [273]. ГАГ оточують фібрили та філаменти незрілих колагенових волокон у сполучній тканині [240]. За рахунок високого негативного заряду, вони добре зв'язують воду, чим регулюють водно-сольовий гомеостаз у тканинах [201].

Декорин і біглікан формують матрикс й кісткової тканини [107]. ГАГ, що входять до їх складу, відіграють ключову роль у формуванні кісток, зокрема кісткової тканини альвеолярного відростка щелеп [135, 318]. Обидва протеоглікани широко експресуються клітинними елементами губчастої та кортикальної кістки, дентину та цементу зуба, забезпечуючи механічну стійкість [138]. Імуногістохімічними методами продемонстрована локалізація сГАГ на клітинній поверхні остеобластів та у перицеллюлярному просторі остеоцитів [132].

У разі пошкодження тканин пародонта кількість протеогліканів і сГАГ істотно знижується [314]. В ушкоджених тканинах пародонта відчувається гострий дефіцит цих сполук.

Активну роль сГАГ відіграють у процесах загоєння тканин пародонта, динамічного процесу по залученню медіаторів запалення, клітин крові, компонентів міжклітинного матриксу та мезенхімальних клітин, що беруть участь у відновленні та тканинній інтеграції [216, 174]. Вільні сГАГ зв'язуються з рецепторами тромбоцитів, разом із цитокінами, на фоні високої

активності ферментів сприяють активації факторів росту фібробластів, ендотелію, епідермального фактору росту та родини трансформуючих факторів [201], зв'язують різні види гіалуронідаз і патогенів [214, 269].

ГАГ беруть активну участь у формуванні, розвитку та репарації тканин пародонта [273]. При набряку тканин, вони блокуючи молекули води, сприяють обмеженню запалення, перешкоджають розповсюдженню процесу на оточуючі тканини, формують своєрідний бар'єр на шляху розповсюдження інфекційного процесу [274].

Таким чином, ГАГ активно впливають на зростання, розвиток і відновлення усіх тканин пародонта; стимулюють побудову колагенових фібрил, відновлюють їх бар'єрну функцію; відіграють важливу роль у фіксації мінеральних компонентів кістки. Вони здійснюють регуляторний вплив на обмін у кісткової тканині; фіксують вільні молекули води; зв'язують рецептори клітин запального ряду (макрофагів), зменшують секрецію прозапальних чинників (продуктів обміну арахідонової кислоти); специфічно зв'язують мікробну гіалуронідазу шляхом фермент-субстратної взаємодії, знижуючи токсичний вплив продуктів життєдіяльності мікрофлори [49].

Уведення до складу біоматеріалів різного походження сГАГ значно підвищує їх біосумістність, репаративну регенерацію тканин пародонта, забезпечуючи незначну остеоіндуктивну дію [61, 66].

На сьогодні представлена значна кількість композиційних препаратів, що містять сГАГ: «Біопласт-Дент» («ВладМива», Росія); «Остеопласт» («Вітаформ», Росія); «Остематрикс» і «Біоматрикс» («Дубна-Биофарм», Росія) тощо. Вони виготовляються у вигляді крихти, мікрочипсів, блоків і пластин ксеногенного або алогенного колагену з фабрично нанесеними сГАГ у межах 0,8–1 мкг/см<sup>3</sup> поверхні біоматеріалів. За клінічного застосування успішною є комбінація ксеногенної колагенової матриці та двофазної кальцій-фосфатної кераміки з не колагеновими протеїнами – сіаловими кислотами: препарат «Індост» (Полістом, Росія). О.І. Годована (2010)

зазначила заповнення кісткових пародонтальних кишень та кісткових дефектів у ділянці фуркацій зубів при комбінованому застосуванні глікозаміногліканвмісної бар'єрної мембрани та крихти [19]. Біоматеріал «Biostite» (Vebas s.r.l., Italy) містить гранули пористого гідроксиапатиту, конячий колаген I типу та 2,5% хондроїтинсульфату, не поступався в репаративному потенціалі ксеноімплантату «Bio-Oss» за клінічного дослідження при лікуванні глибоких пародонтальних кишень [282]. Він продемонстрував істотне підвищення рівня прикріплення тканин, редукцію глибини кишень і рентгенологічно підтверджене їх заповнення кістковою тканиною.

Комбінація сГАГ і гіалуронової кислоти у складі остеопластичних матеріалів і бар'єрних мембран сприяє прискоренню репаративних процесів і загоєнню уражених тканин пародонта шляхом зниження активності протеолітичних ферментів і бактеріальної гіалуронідази, нормалізації обміну у клітинах, покращання обміну речовин, і нормалізації мікроциркуляції [60]. ГАГ активно покращують стан ендотелію судин пародонта, знижуючи проникність судинної стінки, чим зменшують кровоточивість. Активне зв'язування води достатньо швидко знижує набряк тканин. Приєднуючи значну кількість білків і бактеріальних токсинів, що виникають у патологічно змінених тканинах пародонту, кислі ГАГ забезпечують помірний протизапальний та пластичний впливи [77].

За даними І.С. Мальгинової (2005) у довготривалих культурах кісткового мозку декстеровського типу на остеопластичному матеріалі, що містить двофазну гідроксиапатит-трикальційфосфатну кераміку у комбінації з колагеном II типу та кераміці, з введеною до її складу гіалуронової кислоти та хондроїтинсульфату, спостерігався розвиток мезенхімальних стромальних і кровотворних клітин протягом перших діб культивування. Зі збільшенням часу культивування на матеріалах накопичувалася значна кількість кровотворних клітин. Додавання до матеріалу гіалуронової кислоти, хондроїтинсульфату або їх комбінованого використання викликало



приблизно однаковий ефект. Він зводився до збільшення кількості стромальних та, особливо, кровотворних клітин у середньому на 20–25% порівняно з аналогічними показниками при використанні звичайного матеріалу [52].

Однак, репаративні процеси в експериментально створених пародонтальних кісткових кишнях при пластиці кісткового дефекту відбувались по різному. Матеріал, що містив лише гіалуронову кислоту, в усі терміни експерименту викликав запально-продуктивні реакції з лімфо-макрофагальною інфільтрацією та помітним гальмуванням процесів репарації. Особливо інтенсивно відбувалася побудова хрящової тканини. При заміщенні дефектів матеріалом, що містив хондроїтинсульфат, на початку утворювався сполучнотканинний регенерат з поступовою його осифікацією та формуванням кісткових структур. Характерним було здійснення репаративного остеогенезу через фазу хондропоезу по екхондральному та періхондральному типу. На 90-й день експерименту інтенсивність хондропоезу знижувалась та превалювали явища вторинної перебудови вже сформованої кісткової тканини. Лише використання остеопластичного матеріалу з комплексом препаратів гіалурованої кислоти та хондроїтинсульфату призводило до прискорення темпів утворення повноцінного кісткового та кістково-хрящового регенерату, порівняно з використанням одного із компонентів міжклітинного матриксу сполучної тканини [52].

**Висновок.** ГАГ активно впливають на обмінні та пластичні процеси усіх тканини пародонта за нормальних умов і при патологічних процесах. Вони відіграють роль посередників, що зв'язують різноманітні біоактивні речовини, рецептори клітин, колагенові волокна, цитокіни чим суттєво сприяють репарації, володіють, певною, протизапальною й анальгезивною дією. У разі запальних процесів у тканин пародонта визначається гостра нестача цих сполук. ГАГ у складі протеогліканів, разом з іншими не колагеновими білками можна розглядати, як регулятори побудови

колагенових фібрил і фіксації мінеральних компонентів кістки.

У науковій літературі є дані про успішне використання кислих та сульфатованих ГАГ окремо чи у комбінації із остеопластичними матеріалами для стимуляції остеогенезу при лікуванні кісткових пародонтальних кишень. Проте найбільш ефективний вплив на утворення кісткової тканини має остеопластичний матеріал з комплексом препаратів гіалурованої кислоти та хондроїтинсульфату.

Цікавим з точки зору такої синергічної дії на репаративну регенерацію кісткової та хрящової тканини є препарат «Алфлутоп» (Biotehnos S.A., Румунія). Він містить знежирений біологічно активний екстракт морських риб, значну кількість глікозаміногліканів (гіалуронова кислота, хондроїтинсульфат), протеоглікани, амінокислоти, гліцерофосфоліпіди та мінеральні компоненти (солі натрію, калію, кальцію, магнію, заліза, міді та цинку) [51].

За попередніми експериментальними даними препарат «Алфлутоп» замішаний *ex tempore* з ентеросгелем і метронідазолом стимулював процес мінералізації та колагеноутворення експериментального дефекту альвеолярного відростку нижньої щелепи щурів, не поступаючись у цьому остеопластичному матеріалу «КоллапАн Л» [71]. Ця ж медикаментозна композиція уведена до складу пасти для тимчасового заповнення корневих каналів продемонструвала високу клініко-рентгенологічну ефективність у разі лікування хронічного періодонтиту [12].

### **1.3. Хімічна модифікація біоактивних керамічних матеріалів з метою оптимізації загоєння кісткової рани, роль іонних форм срібла та міді**

На сьогоднішній день для потреб пластики кісткової тканини значну увагу приділяють синтетичним керамічним матеріалам – гідроксиапатитній та трикальційфосфітній кераміці, різноманітним ортофосфатним сполукам кальцію, цементам на їх основі, біоактивному склу та склокерамічній

кераміці тощо. Основу багатьох з них складають фосфати кальцію та, насамперед, ГАП, який за своїм хімічним складом і кристалічною структурою найбільш подібний до мінерального компонента кісткової тканини [156, 180].

Такі керамічні матеріали не токсичні, біосумісні, а їх біоактивна поведінка з інтеграцією у оточуючі тканини сприяє щільному фізико-хімічному з'єднанню з кістковою тканиною, що призводить до ремоделювання кістки [232]. Формування такого з'єднання може бути визначено, як остеоінтеграція, під час якої відбувається обумовлене матеріалом наростання кісткової тканини та її фіксація за рахунок адсорбції білка і приєднання активних остеобластів до біологічного апатитного шару, що первинно покриває такий керамічний імплантат [180].

У більшості випадків для біокераміки властива остеокондукція, вона виступає каркасом для формування нової кістки, підтримує адгезію і проліферацію остеобластів [125, 217]. Проте, незважаючи на подібний хімічний склад до кісткової тканини, все ж її просторова будова не відповідає структурним компонентам зрілої кістки, її архітектоніці, особливо за умов використання таких аморфних матеріалів, як щільний ГАП (дурапатит) чи біоскло [116].

Для біокерамічних матеріалів властива крихкість з низькою стійкістю до механічних ушкоджень [208]. Незадовільні механічні властивості найбільш очевидні за значної пористості керамічних матеріалів, яка необхідна для належної васкуляризації та колонізації клітин приймаючого кісткового ложа [156]. Тому їх здебільшого використовують як філери при заповненні невеликих дефектів або для покриття металів [181, 182] при виготовленні ортопедичних конструкцій та дентальних імплантатів.

Керамічні матеріали успішно використовують для пластики пародонтальних кісткових кишень і для заповнення альвеол після видалення коренів зубів з метою профілактики атрофії щелеп [175, 204, 297].

Є дані про успішні результати застосування в аналогічних випадках

апатитів кальцію отриманих з морських коралів-кнідаріїв (кораловий гідроксиапатит) [192] і кісток великої рогатої худоби (тваринний ГАП) [233].

Однак ГАП дуже повільно біотрансформується в організмі особливо після термообробки, тому він непридатний для швидкого відновлення кісток у місцях дефектів [2]. Уважається, що до біотрансформації найбільш здатний нанорозмірний гідроксиапатит [1]. Проте його хірургічне застосування обмежене через його високу дисперсність і незручність за клінічного застосування – не дає можливість повністю заповнити дефект кістки та легко вимивається кров'ю з операційної рани.

Останніми роками в медичну практику впроваджуються так звані smart-синтетичні остеопластичні матеріали, у виробництві яких використовуються новітні матеріалознавчі здобутки. «Інтелектуальність» цих матеріалів досягається шляхом спрямованої модифікації, що значно поліпшує їх фізико-хімічні та біологічні властивості [58, 292]. Серед таких наданих властивостей виділяють: остеоіндуктивні, імунокоригуючі, мембрано-стабілізуючі та бактерицидні [226, 257].

Основними регулюючими механізмами є введення в структуру імплантаційних матеріалів певних хімічних сполук, як органічного походження – високомолекулярних полімерів (хітозан, колаген, кополімери полігліколіду та полілактиду тощо), пептидів і білків, так і неорганічного походження (комбінація окремих хімічних фаз, уведення додаткового легування різними сполуками тощо) [315].

Модифікації керамічних біоматеріалів, які ґрунтуються на введенні деяких білкових факторів (BMP-2, VEGF, ліганд рецептора активатора ядерного фактору каппа-В (RANKL), фібронектин), підтвердили біостимулювальні властивості керамічних імплантатів [299]. Однак отримання таких керамічно-білкових композитів потребує складних і високовартісних технологій та тривалого часу виготовлення.

Більш технологічно виправданим стало насичення матеріалів іонами різних елементів через здатність до хімічної конкуренції іонів, карбонатних і

силікатних сполук з  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{PO}_4^-$  групами у складі гідроксиapatиту [285]. Повідомляється, що катіонне (витіснення іонів кальцію) та аніонне (витіснення гідроксильних і фосфатних груп) заміщення на позитивно та негативно заряджені іони  $\text{Zn}^+$  [266, 301],  $\text{Ag}^+$  [300],  $\text{Sr}^{2+}$  [307],  $\text{Mg}^{2+}$  [144] і  $\text{F}^-$  [129, 222, 256],  $\text{CO}_3^-$  [152],  $\text{SiO}_4^{4-}$  [188, 209] у структурі того ж гідроксиapatиту значно розширює його біотрансформаційні та біоактивні властивості.

Відповідно, відносно просто провести насичення й інших видів алопластичних матеріалів біоактивними іонами. Навіть незначне введення таких іонів до складу керамік суттєво впливає на їх термічну стабільність і здатність до розчинності в фізіологічних умовах, покращує остеокластичну та остеобластичну активність *in vitro* та кісткову регенерацію *in vivo* [137]. Також ефективним є і доповнення кальцій-фосфатних керамік різними склокристалічними фазами (ситалами) [148]. Однак важливою характеристикою таких керамік залишається їх просторова структура, пористість, розмір часточок і фазовий склад [183, 267].

Особливу увагу приділяють здатності матеріалів спрямовано транспортувати різні лікарські засоби [141].

Структурування цих матеріалів на нанорівні значно збільшує їх поверхневу площу, що сприяє підвищенню пористості й адсорбції біологічно активних речовин [145]. Механічні властивості такої біокераміки збільшуються зі зменшенням розміру зерен до нанорозмірного [319]. Доведена підвищена адгезія остеобластів та зниження ступеню фіксації фіброцитів на нанофазній кераміці [122]. Порівняно з щільними зразками гідроксиapatитної біокераміки на наноструктурованій кераміці розповсюдження та диференціація клітин періодонтальної зв'язки зростає [163].

Нанокристали кальційдефіцитного гідроксиapatиту, отриманого методом осідання у водних розчинах мають фізико-хімічні властивості подібні до апатитів кісткової тканини [220]. Такий хімічний склад за рахунок нестехіометричної будови апатиту, дефіциту іонів кальцію та гідроксидних сполук, призводить до більш повної біорезорбції *in vivo* [255]. За рахунок

цього ефекту наноструктуровані гідроксиапатити можуть покращувати властивості спечених кальційфосфатних каркасів для кісткової пластики [251].

Клінічне застосування цих матеріалів для запобігання атрофії альвеолярних відростків після видалення зубів [275] і при хірургічному лікуванні пародонтальних кишень [162] показало високу ефективність.

Пригнічення патогенної мікрофлори в кістковій рані стимулює її репарацію і створює оптимальні умови для загоєння та швидшої реабілітації [219]. Для досягнення цієї мети запропоноване додаткове введення до складу остеопластичних матеріалів антибактеріальних агентів різного походження – антибіотики, антисептики та їх комбінації. Насичення цими речовинами можливе як на стадії синтезу біоматеріалів, так і в клінічних умовах: шляхом додавання їх до остеопластичного матеріалу. Проте, за такого механізму насичення ніяким чином не регулюється ні час, ні механізм виділення антибактеріального агенту зі структури матеріалу. Існують і суперечки щодо доцільності місцевого застосування антибіотиків у складі остеопластичних матеріалів, максимальна активність яких не перевершує 10–14 діб [69]. Крім того, ряд антибіотиків має вузьку та специфічну дію до певного виду мікроорганізму, що унеможлиблює їх широке застосування за наявності змішаної мікрофлори. Антисептики різного походження мають більш широку антимікробну дію, проте в значних концентраціях пригнічують регенераторний потенціал тканини людини.

З іншого боку саме по собі БС проявляє різного ступеня антибактеріальні властивості. D. Zhang зі співавт. (2010), аналізуючи антибактеріальні властивості різних розчинених зразків біоактивного скла *in vitro*, прийшли до висновку, що за їх присутності відбувається загибель значної кількості клінічно значущих факультативно-анаеробних та облігатно-анаеробних пародонтопатогенних бактерій (*E. faecalis*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. epidermidis*, *A. viscosus*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*) на 79–100% за 1–24 години культивування. Цей ефект залежав від компонентів біоскла, розміру його частинок, їх розведення,

проте був пов'язаний зі значним підвищенням рівня рН в оточуючому середовищі [130].

Як антисептики, використовують також сполуки або наночастинки деяких металів: колоїдне срібло, оксиди міді та цинку. У науковій літературі відображено успішне легування іонами срібла, цинку, стронцію синтетичних матеріалів на основі фосфатів кальцію. Найбільш розповсюджений у цьому відношенні є ГАП [131, 300, 301].

Кісткова тканина добре в росте в пори гідроксиапатиту, тому такий матеріал, насичений антибактеріальним агентом, пропонується для пластики кісткових дефектів, у тому числі пародонтальних кишень [74]. Також використовують високопористий склокерамічний гранулят на основі гідроксиапатиту та діоксиду кремнію [73]. З аналогічною метою пропонують використовувати суміш порошків синтетичних фосфатів кальцію та натрійборосилікатної склофази. Запропоновані й матеріали з недостатньою біосумісністю (з переважним вмістом оксиду кремнію) [75].

Тепер найбільш перспективним серед механізмів надання антибактеріальних властивостей синтетичним матеріалам є насичення їх олігодинамічними іонами срібла та міді, у тому числі у вигляді нанорозмірних фракцій [7, 14]. Застосування імплантаційного матеріалу з антибактеріальними властивостями (легованого іонами срібла), за умов інфікування дефекту кісткової тканини, значно стимулювало репарацію кістки порівняно з таким же матеріалом без відповідних властивостей [41, 95].

Серед численних теорій, що пояснюють механізми дії срібла на мікроорганізми, найбільш розповсюдженою є адсорбційна теорія, згідно якої клітина втрачає життєдіяльність у результаті взаємодії електростатичних сил, що виникають між клітинами бактерій, з негативним зарядом, і позитивно зарядженими іонами срібла при адсорбції останніх бактеріальною клітиною [293]. Іони срібла не спричиняють прямої дії на ДНК клітин, а діють опосередковано, збільшуючи кількість внутрішньоклітинних вільних

радикалів, котрі знижують концентрацію внутрішньоклітинних активних сполук кисню [184]. Однією з причин широкої антибактеріальної дії іонів срібла є неспецифічне пригнічення трансмембранного транспорту іонів натрію та кальцію.

Антимікробні спектри срібла та міді збігаються. Установлено, що під впливом іонів міді критично змінюється електрокінетичний потенціал мікробної клітини [86]. Іони міді порушують бар'єрні функції бактеріальних мембран, що у свою чергу призводить до зміни їхньої проникності. За іншими даними токсична дія іонів міді пояснюється їхньою взаємодією з SH-групами бактеріальних білків і ферментів, що призводить до утворення дисульфідних зв'язків. Однак можливий і зворотній процес – відновлення SH-групи речовинами, що генеруються клітиною в процесі її життєдіяльності. У цьому випадку дію іонів міді можна визначити як бактеріостатичну. Інактивація мікроорганізмів міддю протікає повільніше, ніж вільними іонами срібла [93].

Однак визначено, що мікроорганізми мають певні геннодетерміновані механізми резистентності, навіть, до активних іонів срібла, міді, кобальту, кадмію, ртуті [288]. Експериментально доведені декілька, можливих, механізмів розвитку резистентності до іонів срібла: блокування катіонів срібла вільними аніонами галогенів (здебільшого хлору), зв'язування сполук срібла на поверхні бактеріальної мембрани власним периплазматичним метало-специфічним протеїном, інгібування токсичних ефектів на дихальну систему [247]. Вважається що подібний механізм характерний також до елімінації іонів цинку, міді, кобальту та кадмію [253]. Саме такий конкурентний механізм до елімінації олигодинамічних іонів металів і пояснює високий їх синергізм в антибактеріальній дії на клітини нижчих, прокаріотних організмів [288].

Іони срібла у невеликій кількості розглядають як потужний імуномодулятор – вони підвищують кількість імуноглобулінів класів А, М, G, стимулюють фагоцитарну активність нейтрофілів [36, 87]. Іони міді у



складі біоактивного скла достовірно підвищують гіпоксично-подібну тканинну реакцію, що призводить до активації ангіогенезу та пов'язаного з цим остеогенезу [278].

Важливо зауважити, що частина функцій міді взаємопов'язана з цинком, обидва ці елементи беруть участь у роботі ферменту супероксиддисмутази, що відіграє роль у побудові кісткової тканини. Цинк входить до складу ферментів, знаходиться у структурі апатитів кісткової тканини, бере участь у рості і регенерації кісток та інших тканин. Легування цинком (зі ступенем катіонного заміщення 0,2 масових % (мас.%) надає гідроксиapatиту бактерицидні властивості, навіть більші, ніж легування сріблом [99].

Важливим є той факт, що ці іони негативно не впливають на клітини вищих організмів, тобто мають мембрано-специфічну дію. У незначних концентраціях іони міді та срібла не мають цитотоксичної дії на клітини людського організму, крім того зовсім не перешкоджають агрегації остеобластів на частинках остеопластичних матеріалів [62, 130]. Проте є свідчення про високу токсичність у нанорозмірному стані навіть тих речовин, які при дії частинок мікрометрового діапазону виступають відносно біологічно інертними [32]. Вказується і про більшу цитотоксичність наночасток оксиду срібла порівняно з наночастками оксиду міді [93].

Нанорозмірний гідроксиapatит зі сріблом у кількості 0,5–1,5 атомних % (ат.%), поряд з антибактеріальною дією на *E. coli* та *S. aureus* не перешкоджає адгезії остеобластів до своєї поверхні *in vitro* [127]. Гідроксиapatитна кераміка, легована іонами срібла в межах 0,5–2 мас.%, з рівномірним і градієнтним розподілом, розміщена у культурі клітин кісткового мозку та мезенхімальних клітин людини, не гальмувала їхньої проліферації. А концентрація 0,5 ат.% срібла визначена як оптимальна, що забезпечує не лише адгезію, а і проліферацію остеогенних клітин [95].

C. Valagna зі співавт. (2011) продемонстрували, що срібловмісне біоактивне скло пригнічує проліферацію та диференціацію остеобластичних клітин порівнюючи зі зразком без срібла [140]. C.S. Siobanu зі співавт. (2013),

напроти, визначали потенціювання активності макрофагів, без порушення їх життєдіяльності, за присутності гідроксиапатитної кераміки легованої сріблом [295].

Результати досліджень Р. J. Newby (2011) вказують, що вищі концентрації одновалентних іонів срібла, введені до складу каркасів з біоактивного скла, понижують кількість прикріплених остеобластних клітин [120].

С. Wu зі співавт. (2011) обґрунтовували наявність у складі скло-керамічних систем іонів кобальту, бору, магнію та заліза [237]. Згідно з їх даними ці мікроелементи відіграють важливу роль у біохімічному обміні кісткової тканини, в якості стимуляторів синтезу та експресії остеогенних білків, факторів місцевої ішемії [215]. Мідь порівняно зі сріблом має менш вираженні антисептичні властивості, але разом з тим значно посилює дії препаратів срібла. А комбінація іонів цинку та срібла в складі гідроксиапатиту дозволяє зменшити кількість катіонів срібла без зниження бактерицидних властивостей матеріалу [99].

В.К. Івченко у 2006 році запропонував використання насиченого міддю біогенного апатиту для лікування інфікованих дефектів кісткової тканини щелеп [28]. Однак рекристалізація та втрата гідроксильних груп біомінералу кістки під час прожарювання обумовлює значне зменшення біосумісності й здатності до біотрансформації такого матеріалу в порівнянні з високо-активним пористим гідроксиапатитом.

Комплекс двовалентної міді з пептидами сполучної тканини демонструє як ангіогенну активність, так і стимулює ріст клітин попередників остеобластів *in vivo* [311]. Мідь сприяє синтезу колагену, проліферації та диференціації людських мезенхімальних стромальних клітин, стимулює ангіогенез [277]. Ефективним є використання гідрогелю на основі 50% гіалуронової кислоти з іонами міді та при комбінації з ліофілізованим алоімплантатом кістки при введенні в м'які тканини для підвищення щільності судинної сітки [200]. Повідомлялось про сприятливий вплив модифікованого кальцій-фосфатного цементу з іонами міді на васкуляризацію макропор

матеріалу *in vivo* при імплантації у кісткову тканину [124].

Мідьвмісний мезопористий каркас на основі біоактивного скла демонстрував мультифункціональні властивості такі як ангіогенність, здатність до остеостимуляції та антибактеріальної активності *in vitro*. Леговане біоскло з концентрацією іонів двовалентної міді в межах 1–5 мол.% не проявляло цитотоксичних ефектів на клітини людини разом із підвищенням інших біологічних якостей [164].

Макропористий та біорезорбуючий каркас з брушитного цементу, виготовлений шляхом тривимірного друкування з порошку, насиченого низькою концентрацією сульфату міді, позитивно впливав на ріст і активність остеобластних клітин, засіяних на поверхню матеріалу. Підтверджена секреція деяких остеогенних білків остеобластними клітинами, опосередкована присутністю міді, котра демонструвала активність і проліферацію клітин уже через 10 діб культивування. Особливо ефективним виявилось насичення брушитного цементу двовалентною міддю з концентрацією в межах 5,65–0,56 мкг/см<sup>2</sup>. Брушит, легований міддю у концентрації 65 мкг/см<sup>2</sup> на 72% підвищував активність клітин порівняно з матеріалом без міді. А кількість клітин на 55% зростала уже при кількості міді з розрахунку 0,56 мкг/см<sup>2</sup> цементу [306].

Проте, існують данні і про зниження остеогенної диференціації мезенхімальних стромальних клітин після чотирнадцяти діб культивування [111] на поверхні кісткових імплантатів з міддю у межах 0,05–0,1 мМ.

Отже враховуючи протиріччя в літературних джерелах, залишається актуальним подальше вивчення реакції клітин-попередників остеобластів на присутність сполук міді та інших компонентів склокерамічних фаз [139, 178], адже останнім приписується виражена остеостимулювальна дія [211].

**Висновок.** На сьогодні відомі алопластичні матеріали для заміщення дефектів кісткової тканини не відповідають усьому спектру висунутим до них вимог. З метою покращення біологічних властивостей біокерамічних

матеріалів запропонована значна кількість способів – від комбінації керамічних фаз до структурування на нанорівні. У результаті це забезпечує більш повну і керовану біотрансформацію матеріалу за рахунок залучення у процес біорезорбції одночасно кількох різних механізмів метаболізму (наприклад, метаболізм гідроксиapatиту і трикальційфосфату реалізується, головним чином, шляхом фагоцитозу, а метаболізм біоактивного скла – біохімічного розчинення) [147, 235, 280, 303]. Багатофазність керамічних імплантатів, з різною швидкістю біодеградації компонентів, дозволяє ефективно вирішити ще одне важливе завдання – формування додаткової пористості імплантату за рахунок вибіркового розчинення, що необхідно для задовільної васкуляризації зони імплантації, яка забезпечує швидше формування кісткової тканини та її досконалість. Вона дозволяє краще регулювати зміну з часом біостимулюючої дії імплантованого матеріалу, а також формування в процесі біотрансформації додаткової пористості, необхідної для росту кровоносних судин.

Літературні дані свідчать, що додаткове легування компонентів біокераміки надає їй нових непритаманних раніше властивостей, і може розглядатися як відносно простий спосіб спрямованої функціоналізації таких матеріалів для потреб кісткової пластики у різноманітних клінічних ситуаціях – наявності персистуючої мікрофлори, необхідності остеостимулюючих та ангіогенних чинників тощо. Перспективними з цієї точки зору є сполуки срібла та міді, що реалізуються в оточуюче середовище зі структури керамічної решітки в іонізованому вигляді.

Проте, необхідно враховувати, що компоненти, які мають бактерицидні або бактеріостатичні властивості, можуть гальмувати проліферацію клітин кісткової тканини, і найбільша потреба в них існує тільки в найближчий час після пластики до повного загоєння операційної рани. Біостимулювальні властивості компонентів важливі в інший проміжок часу – коли відбувається найактивніше відновлення кісткової тканини.

Проведений аналіз літератури виявив доволі суперечливі дані стосовно застосування різноманітних остеопластичних біоматеріалів при кістковій пластиці та, зокрема, для хірургічного лікування генералізованого пародонтиту. Враховуючи це доцільним є подальше удосконалення та розробка нових синтетичних біоматеріалів з метою покращання ефективності хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Методи клінічних досліджень

##### 2.1.1. Загальна характеристика хворих на генералізований пародонтит

Дослідження були проведені у клінічній групі з 47 хворих на генералізований пародонтит віком від 35 до 55 років (у середньому  $43,2 \pm 1,7$  років), яким проводили комплексне лікування на кафедрі терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Серед них було 28 (59,6%) чоловіків та 19 (40,4%) жінок. Переважали хворі на генералізований пародонтит III ступеня – 33 (70,2%), у 14 (29,8%) хворих діагностовано II ступінь захворювання. Хронічний перебіг генералізованого пародонтиту діагностовано у 40 (85,1%) хворих, загострених – у 7 (14,9%).

До початку обстеження, комплексного та хірургічного лікування генералізованого пародонтиту згідно з протоколом дослідження в усіх пацієнтів отримано добровільну поінформовану згоду на участь у дослідженні. Відповідний протокол дослідження був переглянутий та затверджений Комісією з питань етики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (протокол засідання № 82 від 08.10.2014 року).

Усім пацієнтам було проведено комплексне обстеження за загальноприйнятою схемою згідно «Протоколів надання медичної допомоги зі спеціальності «Стоматологія терапевтична», МОЗ України» (2007). Отримані дані заносили до спеціально розробленої карти обстеження.

Загальний стан організму оцінювали за анамнестичними даними, гемограмою, біохімічними та імунологічними показниками. Залучали до обстеження лікарів-інтерністів: терапевта, невропатолога, кардіолога, ендокринолога, гінеколога тощо.

Серед загальносоматичних захворювань діагностовано прояви ураження органів травлення – у 11 (23,4%) пацієнтів, ендокринної системи – у 9 (19,1%) пацієнтів, серцево-судинної – у 7 (14,9%) та інших (сечостатевої, нервової, опорно-рухової систем) – у 5 (10,6%) пацієнтів. У 7 (14,9%) пацієнтів спостерігали два і більше захворювань одночасно. Лише у 15 (31,9%) пацієнтів не виявлено супутніх загальних захворювань.

Усім пацієнтам на генералізований пародонтит проводили ретельне клінічне обстеження ротової порожнини: визначали стан твердих тканин зубів, зубних рядів, анатомічні особливості будови присінку рота, рівень прикріплення вуздечок слизової оболонки, стан слизової оболонки ясен, пародонтальні кишені, ширину прикріплених ясен, стан періодонта та кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп. Обстеження включало: збір анамнезу, власне клінічне обстеження та рентгенографічне дослідження. При постановці діагнозу використовували класифікацію захворювань пародонта за М.Ф. Данилевським (1994) [26].

Після завершення першої фази комплексного лікування хворі на генералізований пародонтит II та III ступеня, були рівномірно рандомізовані у дві групи. Основну групу склали 23 (48,9%) пацієнти, середній вік –  $44,1 \pm 1,8$  роки. Серед них було 16 (69,6%) чоловіків і 7 (30,4%) жінок. Генералізований пародонтит III ступеня діагностовано у 15 (65,2%) пацієнтів, II ступінь – у 8 (34,7%) пацієнтів. У контрольну групу були включені 24 (51,1%) пацієнти, серед яких – 12 чоловіків та 12 жінок, по 50% відповідно. У 18 (75%) пацієнтів діагностовано генералізований пародонтит III ступеня, у 6-ти (25%) хворих – генералізований пародонтит II ступеня. Середній вік пацієнтів цієї групи складав  $45,2 \pm 1,2$  роки. Таким чином клінічні групи згідно розподілу хворих на генералізований пародонтит з відповідним ступенем захворювання та віком були порівнюваними.

До вказаних груп включали пацієнтів з: 1) наявними кістковими пародонтальними кишнями глибиною не менше 4 мм, що раніше не зазнавали хірургічного лікування; з рентгенологічно підтвердженим

дефектом; 2) відсутністю протипоказань до хірургічних втручань з боку місцевого та загального стану; 3) достатньою кількістю кератинізованої ділянки ясен, не менш ніж 2–3 мм; та 4) мотивовані до регулярних оглядів у визначені терміни, що дотримувалися наданих лікарських рекомендацій.

З груп клінічного дослідження виключали: 1) пацієнтів з наявним обтяженим алергічним анамнезом, алергічними реакціями до місцевих анестетиків, антибіотиків чи чутливість до будь-яких компонентів матеріалів і препаратів, що досліджувались; 2) пацієнтів з субкомпенсованими або декомпенсованими загальносоматичними захворюваннями; 3) жінок у період вагітності та під час годування груддю; 4) пацієнтів зі шкідливими звичками, зокрема тютюнопалінням; 5) пацієнтів, що продемонстрували незадовільне дотримання гігієни порожнини рота при значенні індексу ОНІ-S більше ніж 1,6 балів після проведеного початкового (гігієнічного) етапу лікування.

Хірургічне лікування пацієнтів проводили за показаннями послідовно в окремих ділянках зубного ряду. Оперативне втручання виконували у середньому на 1–2 сегментах зубного ряду хворого, що включав від 4 до 6 зубів. У кожному з сегментів визначено кісткову пародонтальну кишеню для подальшого дослідження згідно зазначених нижче критеріїв. У разі наявності подібних за анатомічною будовою контрлатеральних пародонтальних кишень, їх включали до дослідження у різні групи. Клініко-рентгенологічні результати ефективності хірургічного лікування методом спрямованої тканинної регенерації залучених внутрішньокісткових кишень оцінювали та порівнювали у ранній післяопераційний період (3–7, 14 доба), через 3, 6 та 12 місяців після хірургічного лікування.

### **2.1.2. Клініко-рентгенологічне обстеження**

Під час стоматологічного обстеження з'ясовували скарги хворого: біль або відчуття дискомфорту в яснах, кровоточивість ясен (при дії механічних подразників або спонтанну), галітоз, виділення з пародонтальних кишень, біль та рухомість зубів тощо.



Збираючи анамнез, приділяли увагу виявленню місцевих факторів ризику та часу появи перших ознак захворювання. Визначали тривалість, характер перебігу хвороби, проведене раніше лікування та його ефективність. Із анамнезу життя визначали про наявність подібних проявів у батьків і найближчих родичів, супутніх та перенесених у минулому загальних захворювань, їх можливий зв'язок із захворюванням пародонта. З'ясовували наявність шкідливих звичок хворого, його спосіб життя і харчування, рівень гігієни порожнини рота. Оцінювали алергічний статус пацієнтів, з можливим ризиком виникнення імунних реакцій гіперчутливості на лікарські препарати або засоби.

Для оцінки загальносоматичного стану використовували висновки лікарів-інтерністів: терапевта, гастроентеролога, невролога, ендокринолога, кардіолога тощо.

При зовнішньому огляді оцінювали загальний вигляд хворого, симетрію обличчя, наявність патологічних змін на шкірі та видимих слизових оболонках, стан губ і кутів рота, характер фонації, носового дихання, ступінь відкривання рота, стан регіонарних лімфатичних вузлів тощо.

При огляді ротової порожнини оцінювали колір та консистенцію слизової оболонки присінку, його глибину, стан і висоту прикріплення вуздечок. Визначали стан слизової оболонки щік, м'якого піднебіння, твердого піднебіння, язика, дна порожнини рота. Ясна обстежували з вестибулярного та орального боків. Оцінювали їх колір, наявність або відсутність набряку, консистенцію, рельєф ясенного краю тощо. Наявність, локалізацію та інтенсивність запального процесу ясен визначали за допомогою проби Пісарева-Шиллера [23]. Особливу увагу приділяли зубним відкладенням: їх виду, консистенції, кількості та локалізації. Для виявлення зубного нальоту (зубних бляшок) використовували діагностичні барвники.

Оцінювали стан твердих тканин зубів і зубних рядів. Ретельно виявляли місцеві подразнювальні фактори, які сприяли виникненню запальних змін пародонта: каріозні порожнини, неповноцінні пломби (особливо в

пришийкових ділянках і на контактних поверхнях), нераціонально виготовлені протези, аномалії положення окремих зубів і прикусу. Рівень інтенсивності карієсу зубів оцінювали за індексом КПВ. Визначали наявність клиноподібних дефектів, оголення та гіперчутливість шийок зубів, ендодонтичних (пульпітів, періодонтів) і періодонто-ендодонтальних (в т.ч. ретроградний пульпіт) уражень. Визначали патологічну рухомість зубів за Ентіним [27]. Діагностували ділянки травматичної оклюзії, її вузлів і супраконтакти зубів антагоністів за допомогою артикуляційного паперу чи воскових пластинок.

Визначали наявність і глибину пародонтальних кишень, рівень втрати клінічного прикріплення, характер і величину рецесії ясен (за класифікацією P.D. Miller, 1985). Діагностику стану фуркацій багатокорневих зубів, проводили за ступенем їх залучення в патологічний процес згідно класифікації S.E. Hamr (1975). Оцінювали кількість і характер виділень з них. Інтенсивність гноєвиділення визначали за А.Н. Балашовим [55].

Зондування пародонтальних кишень, визначення рівнів втрати прикріплення та рецесії здійснювали за допомогою градуйованого стандартного пародонтологічного зонда довжиною у 15 мм (UNC 15, LMDental, Фінляндія). Ці параметри реєстрували на всіх поверхнях зубів (дистобукальна, медіобукальна, мезіобукальна, дистолінгвальна, медіолінгвальна та мезіолінгвальна поверхні).

Приділяли окрему увагу обстеженню ділянок, де проводили хірургічне втручання. Локально визначали гігієнічні індекси та показники запалення ясен. Особливо ретельно визначали глибину пародонтальних кишень, клінічний рівень втрати прикріплення та рецесії ясенного краю у ділянці зубів, що залучались до проведення оперативного лікування. В окремих випадках з використанням спеціально виготовленого назубного шаблону з позначками, що відповідали зазначеним пунктам [272].

Кожен вимір виконували двічі з метою калібрування результатів. Здійснювали співставлення результатів вимірів між окремими ділянками та

включеними у дослідження ділянками зубного ряду. Показники реєстрували лише тоді, коли через 5 хвилин вони співпадали у 90% випадків.

Індексну оцінку, клінічні параметри (рівень втрати прикріплення, глибину та рецесію) пародонтальних кишень, залучених у дослідження визначали на початку пародонтологічного лікування, безпосередньо перед хірургічним втручанням (вихідні показники) та через 3, 6 та 12 місяців.

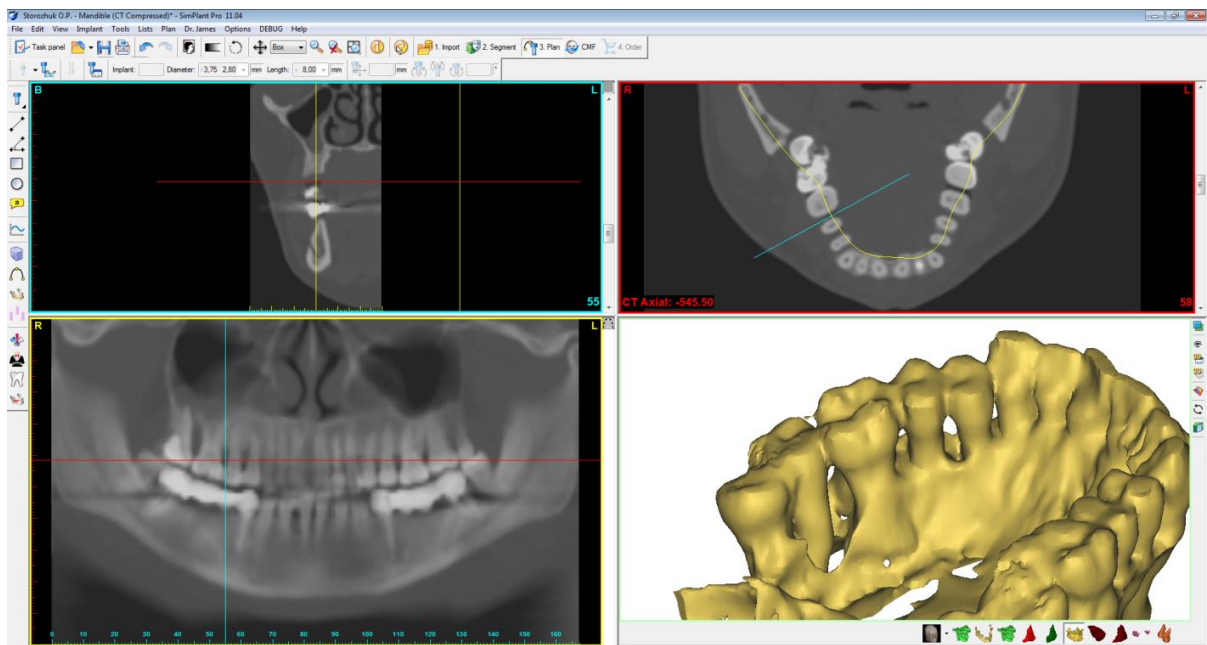
Протягом перших семи днів після операції, у пацієнтів визначали ступінь болю, кровоточивості у післяопераційних ділянках, гіперемії та набряку ясен і оточуючих слизових оболонок за тиждень, використовуючи анкетування при лікарському огляді за критеріями їх відсутності, незначного, помірною або вираженого вияву. Післяопераційний стан слизово-окістних клаптів на 7-му та 14-ту добу оцінювали за «індексом раннього загоєння рани» (ІРЗР) запропонованим Н. Wachtel зі співавт.[245]. Його оцінювали за наступним п'ятиступеневим принципом: 1) повне сполучення клаптів, відсутність фібринового випоту на поверхнях, що контактують; 2) повне сполучення клаптів, тонка фібринова плівка на поверхнях, що контактують; 3) повне сполучення клаптів, фібриновий згусток фіксований на поверхнях, що контактують; 4) розходження країв рани, частковий некроз тканин клаптів та 5) значне розходження країв рани, повний некроз тканин клаптів. Реєстрували ознаки експозиції та відторгнення пародонтологічних бар'єрних мембран.

**Стан кісткової тканини** альвеолярного відростка оцінювали за даними панорамної рентгенографії (ортопантомографія) та внутрішньоротових контактних рентгенограм з використанням стандартизованих позиціонерів (паралельно променева техніка) [119]. Рентгенографію проводили перед лікуванням, на етапах та через рік після хірургічного лікування.

Для усунення двовимірних рентгенологічних спотворень та адекватної остеометрії використовували мультиспіральну комп'ютерну томографію (МСКТ) щелеп пацієнтів. Результати МСКТ дослідження у подальшому обробляли у прикладній спеціалізованій комп'ютерній програмі

«SimPlant Pro» (ver. 11, Materialise, Бельгія). За допомогою її інструментів здійснювали імпорт даних томографа, їх конвертацію та сегментацію з метою виділення ділянок щелеп з кістковими пародонтальними кишнями залученими до дослідження.

Надалі, проводили побудову віртуальної тривимірної моделі виділених об'єктів (рис. 2.1). На цих моделях оцінювали стан кісткової тканини та її якість, особливості топографії пародонтальних дефектів щелеп, їх конфігурацію та співвідношення до оточуючих зубів перед та після (на 12-й місяць) застосування хірургічного лікування. При цьому результати вимірів на тривимірних об'єктах зіставляли з даними з двовимірних проєкцій у сагітальній, вертикальній та трансверзальній проєкціях.



*Рис. 2.1. Інтерфейс програми «SimPlant Pro». Побудова тривимірної моделі верхньої щелепи та двовимірних проєкцій. Візуалізація глибоких кісткових кишень у ділянці 14–15 зубів та 16–17 зубів (вид зі сторони твердого піднебіння).*

На усіх віртуальних моделях пародонтальних дефектів перед їх пластичним заповненням проводили лінійні виміри (у мм) відстані від цемента-емалевої межі зуба до дна дефекту ( $A_1$ ) та найбільш коронально розміщеної частини альвеолярного відростка (C). Розраховували величину

внутрішньокісткового компонента пародонтальної кишені ( $B_1$ ) за формулою  $B = A - C$ , де  $B$  – відстань між краєм альвеолярного відростка та дном кишені [160]. Через рік визначали післяопераційні показники у тих же позиціях ( $A_2, B_2$ ).

За різницею  $A_1 - A_2$  визначали показник величини заповнення кишені кістковою тканиною ( $D$ ) у мм. Рентгенологічний відсоток заповнення пародонтальної кишені (далі – ЗПК, %) розраховували за формулою (1) [202]:

$$\text{ЗПК} = \frac{D}{A_1} \times 100. \quad (1)$$

За пропорцією  $(B_1 - B_2) / B_1 \times 100$  оцінювали рентгенологічний відсоток заповнення внутрішньокісткового компонента пародонтальної кишені (далі – КЗ, %).

Якість кісткової тканини, що утворювалася в ділянці пародонтальної кишені після лікування, аналізували за допомогою променевої денситометрії [110], на основі визначення рентгенологічних показників щільності мінерального компонента у одиницях Хаунсфільда (HU) [264] через рік після лікування. Використовуючи інструменти програмного забезпечення «SimPlant Pro» на віртуальних моделях прокладали профільні лінії через рентгенологічно щільний аугментат у всіх проекціях з побудовою відповідних калібрувальних діаграм.

### **2.1.3. Індексна оцінка інтенсивності запалення ясен та гігієнічного стану порожнини рота**

Стан гігієни порожнини рота визначали за індексом ОНІ-S (J.C. Greene, J.R. Vermillion) [203] та FMPS (Т.Т. О'Лейрі зі співавт.) [254], гігієнічний стан у ділянці хірургічного втручання – за модифікованим індексом бляшок PI (J. Sillness, H. Löe) [236].

Для розрахунку FMPS (загальноротовий рівень бляшок), після забарвлення, визначали наявність зубного нальоту на шести поверхнях зуба (три вестибулярні: медіальна та дві апроксимальні і три оральні: медіальна та

дві апроксимальні) у формі відповіді «так/ні». Оцінку проводили на всіх присутніх зубах з вестибулярної та оральної поверхні за формулою (2):

$$\text{FMPS} = \frac{\text{загальна кількість ділянок з зубними відкладеннями}}{6 \times \text{кількість залучених зубів}} \times 100. \quad (2)$$

Значення FMPS менше ніж 20% та ОНІ-S нижче 0,7 бала свідчило про активну участь пацієнта в дотриманні індивідуальної гігієни.

Розрахунок модифікованого РІ здійснювали біля окремого зуба з досліджуваною пародонтальною кишенею в ділянці хірургічного втручання [204, 229, 230]. Оцінювали ясенний стан за бальною шкалою з вестибулярної, язичної, медіальної та дистальної поверхні зуба, використовуючи для розрахунку формулу (3):

$$\text{РІ} = \frac{\text{сума балів}}{4}. \quad (3)$$

При цьому за 0 балів приймали відсутність зубного нальоту (бляшок), за 1 бал – нашарування нальоту в пришийковій ділянці; за 2 бали – помірні скупчення нальоту на маргінальних яснах та пришийковій ділянці; за 3 бали – значне скупчення зубного нальоту в міжзубних проміжках.

Для оцінки рівня запалення ясен та його інтенсивності застосовували папілярно-маргінально-альвеолярний індекс (РМА) за I. Schour, M. Massler [283] у модифікації С. Parma [23, 27]: до 25% – легкий, 25–50% – середній, більше 50% – тяжкий запальний процес у яснах. Ступінь запалення у ділянці хірургічного втручання в межах зуба з досліджуваною пародонтальною кишенею – за гінгівальним індексом GI (J. Silness, H. Löe) [287], здійснюючи підрахунок за наведеним вище алгоритмом. Ступінь кровоточивості ясенних сосочків оцінювали за індексом (РВІ) запропонованим Н.Р. Mühlemann та S. Saxer [249]. Гудзиковим зондом проводили зондування ясенних сосочків оральної поверхні правої половини верхньої щелепи і лівої половини нижньої щелепи та вестибулярної поверхні лівої половини верхньої щелепи і правої половини нижньої щелепи. Оцінювали у балах: 0 – кровоточивість відсутня, 1 – поява окремих точкових кровотеч, 2 – численні точкові кровотечі, поява лінійного заповнення, 3 – міжзубний проміжок запов-

нюється кров'ю, 4 – інтенсивна кровоточивість, кров заповнює ясенну борозну та витікає за її межі.

## **2.2. Методи вивчення властивостей біоактивного керамічного композиту**

Для вивчення фізико-хімічних властивостей зразків біоактивного керамічного композиту «Синтекість» (далі – БКС) застосовували трансмісійну електронну мікроскопію (ТЕМ), мікроскоп JEOL JEM-2100F за потужності у 200 kV [39]. Розподіл керамічних фаз визначали за допомогою рентгенодифракційного аналізу (дифрактометр ДРОН-3М) [9]. Ступінь окислення іонів срібла та міді у складі БКС визначали методом рентгенівської фотоелектронної спектроскопії (фотоелектронний спектрометр JSPM-4610, JEOL) [84]. Процес легування оцінювали методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою, Spectroblame Modula ICP «Spectro») [38]. Поверхневу структуру гранул кераміки досліджували за допомогою растрової електронної мікроскопії (SEM) [57].

Мікробіологічне та цитологічне дослідження виконували *in vitro* на зразках біокерамічного композиту легovanого різними концентраціями срібла та міді з метою визначення оптимальних біосумісних концентрацій легуючих додатків при збереженні ефективного антибактеріального впливу. На підставі отриманих даних у подальшому була обґрунтована і розроблена остеотропна композиція для кісткової пластики.

Експериментальне дослідження на лабораторних тваринах проведено з метою вивчення остеостимулювальної дії запропонованої остеотропної композиції на основі біокераміки за біохімічними маркерами обміну кісткової тканини та морфологічними ознаками репарації кісткового дефекту *in vivo*.

Клінічне дослідження передбачало вивчення та порівняльну характеристику репаративного потенціалу запропонованої остеотропної композиції на основі біокерамічного композиту за клаптевих операцій зі

застосуванням методики спрямованої регенерації тканин при комплексному лікуванні пацієнтів на генералізований пародонтит II та III ступеня.

### 2.3. Мікробіологічні методи дослідження

Антимікробну дію БКС, легованого іонами срібла та міді, залежно від концентрації, визначали до мікроорганізмів, різних за таксономічним положенням (грампозитивних та грамнегативних бактерій), а також до дріжджоподібних грибів роду *Candida*. Були використані референтні тест-штами мікроорганізмів, отримані з музею живих культур лабораторії загальної мікробіології Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб НАМН України. Характеристика використаних мікроорганізмів наведена у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

#### Характеристика тест-штамів мікроорганізмів, використаних для мікробіологічного дослідження

Мікроорганізми	Кількість штамів	Звідки одержано мікроорганізм
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1	Музей живих культур Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1	-//-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1	-//-
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	1	-//-

Одночасно з цим визначали залежність антибактеріальної дії модифікованого БКС, на прикладі тест-штаму культури *S. aureus* (ATCC



25923), залежно від розміру гранул різних фракцій матеріалу (100–300 мкм та 1–2 мм відповідно), при однаковій атомній концентрації іонів. За основу був взятий зразок БКС насичений 1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді.

Паралельно було проведено дослідження антибактеріальної дії зразків БКС та матеріалів груп порівняння на змішану мікрофлору, виділену з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит. З цією метою у клінічній групі хворих, у яких було діагностовано генералізований пародонтит II та III ступеня, хронічного перебігу, отримували матеріал з пародонтальних кишень для потреб мікробіологічного дослідження. У групу хворих не були включені особи, яким впродовж останнього року призначали антибіотикотерапію. Забір матеріалу здійснювали при первинному відвідуванні, перед початком комплексного лікування.

У якості груп порівняння при дослідженні чутливості мікрофлори використані наступні остеопластичні матеріали:

1. Модифікований біокерамічний композит «Синтекість» – збагачений іонами срібла та міді у різних атомних концентраціях (див. табл. 3.2), величина гранул 0,3–1 мм.

2. «Біопласт-Дент» з лінкоміцином (ЗАТ «ВладМиВа», Росія; державна реєстрація № 11460/2012) – остеопластичний матеріал на основі кісткового колагену, насичений лінкоміцином у концентрації 0,03% на 1 см<sup>3</sup> матеріалу, з величиною гранул 0,2–0,7 мм (БП-Л). Лінкоміцину гідрохлорид – бактеріостатичний остеотропний антибіотик широкого спектру дії.

3. «Біопласт-Дент» з хлоргексидином та метронідазолом (ЗАТ «ВладМиВа», Росія; державна реєстрація № 11460/2012) – насичений комбінацією 0,002% хлоргексидину та 0,001% метронідазолу в перерахунку на 1 см<sup>3</sup> матеріалу, при тому ж розмірі гранул (БП-МХ). Хлоргексидин – хлорвмісний похідний бігуаніду. Метронідазол – антитрихомнадний препарат, який ефективно впливає на анаеробну мікрофлору.

Дослідження проведено на базі бактеріологічної лабораторії кафедри

мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

**Методика визначення чутливості тестових штамів мікроорганізмів до вказаних матеріалів.** Для визначення протимікробної дії досліджуваних зразків БКС застосовано методику «колодязів», або методику «комірок» [88]. Вона є різновидом дисково-дифузійного методу визначення чутливості мікроорганізмів [85].

У чашки Петрі діаметром 100 мм, встановлені на суворо горизонтальну поверхню, заливали два шари твердого поживного середовища. На нижній шар – 10 мл розтопленого «голодного» агару АГВ (HiMedia, Індія), а на верхній шар – поживне середовище для відповідної добової культури тест-штаму мікроорганізму (для *E. coli* та *Ps. aeruginosa* – м'ясо-пептонний агар, МПА (LabSnab, Україна), а для *S. aureus*, – МПА (LabSnab, Україна) з додаванням 1% глюкози (глюкозний МПА) та для *C. albicans* – середовище Сабуро (VWR Prolab, США). Після охолодження нижнього шару агару на ньому встановлювали на рівній відстані один від одного та від краю чашки тонкостінні порожнисті циліндри (внутрішній діаметр – 6 мм, висота – 10 мм). Навколо циліндра заливали верхній шар – 13,5 мл розтопленого та охолодженого до 45–48 °С відповідного поживного середовища, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму (1,5 мл мікробної зависі). Після охолодження верхнього шару агару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані комірки вносили однакову кількість (55 мг) досліджуваного зразка БКС. На кожну чашку Петрі розміщували п'ять зразків легованого БКС з різною концентрацією іонів та один зразок нелегований, вільний від іонів срібла та міді, в якості контролю.

Аналогічним чином визначали чутливість змішаної мікрофлори пародонтальних кишень до антибактеріальної дії остеопластичних матеріалів.

Матеріал для мікробіологічного дослідження брали у клінічних умовах шляхом зішкрібання кюретами з під'ясенної поверхні кореня зуба – з повної глибини пародонтальної кишені хворих. Його розміщували на ватних

турундах, які занурювали у транспортне середовище. Турунди попередньо стерилізували в сухожаровій шафі при температурі 165–170 °С протягом 1 години. Одержаний матеріал транспортували до бактеріологічної лабораторії в межах 20–30 хв. Матеріал висівали на спеціальне поживне середовище – м'ясо-пептонний бульйон з додаванням 1% глюкози (цукровий бульйон), і витримували в термостаті 24 години при температурі 37 °С для отримання суспензії змішаної мікрофлори пародонтальної кишені.

Ідентифікацію виділених мікроорганізмів проводили за морфологічними та тінкторіальними властивостями, шляхом бактеріоскопічного аналізу. Суспензію мікрофлори попередньо фіксували та забарвлювали на предметному склі за Грамом за стандартною методикою.

У стандартних чашках Петрі, за вищенаведеною схемою підготовлювали комірки. Верхній шар заливали поживним середовищем для суспензії змішаної мікрофлори (кров'яний МПА та глюкозний МПА), з відповідною посівною дозою суспензії мікрофлори пародонтальних кишень (1,5 мл мікробної зависі). На одні чашки Петрі розміщували по п'ять зразків легованого БКС з різною концентрацією іонів та один зразок нелегований, в якості контролю. А на інші – зразки кераміки та матеріали порівняння. У кожену комірку вносили однакову кількість (55 мг), попередньо зважених на торсійних вагах ВТ–500, зразків остеопластичних матеріалів.

Облік результатів проводили через 24 години витримки в термостаті при температурі 37 °С, визначаючи зони пригнічення росту тестових культур мікроорганізмів та змішаної мікрофлори (у мм), включаючи діаметр комірок. Одночасно здійснювали контроль середовищ на стерильність та контроль росту культур мікроорганізмів у середовищах без матеріалів.

Оцінку отриманих результатів проводили враховуючи діаметри зон затримки росту мікроорганізмів навколо комірок з відповідними матеріалами та зразками кераміки. Антибактеріальну дію до тестових штамів і клінічно виділених мікроорганізмів проводили за наступними критеріями [11, 85]:

- діаметр зони 6 мм оцінювали як відсутність антибактеріального

ефекту;

- діаметр зони 7–14 мм – як незначний антибактеріальний ефект;
- діаметр зони 15–19 мм – як помірно виражений антибактеріальний ефект;
- діаметр зони у 20 та більше – як високий антибактеріальний ефект.

**Методика визначення бактерицидного та бактеріостатичного впливів лежучих компонентів зразків БКС на змішану мікрофлору пародонтальних кишень.** Для встановлення бактерицидного та бактеріостатичного впливів зразків БКС на клінічно виділені культури мікроорганізмів, застосували мікрометод послідовних серійних розведень у рідкому поживному середовищі із використанням одноразових полістиролових планшетів і мікродозаторів. Цей метод дозволяє швидко (у межах однієї доби) та якісно визначити антимікробну активність великої групи сполук стосовно широкого спектру мікроорганізмів [17, 31].

У 96-лункові полістиролові планшети вносили по 0,4 мл 4-годинної зависі змішаної культури мікроорганізмів, вирощених на 1% цукровому бульйоні. Вміст мікроорганізмів складав близько  $1 \times 10^6$  колонієутворюючих одиниць на 1 мл середовища. Далі в кожен лунку вносили по 55 мг зразків БКС, легованих різними концентраціями іонів срібла та міді. Після цього планшети розміщували у вологій камері у термостаті при температурі 37 °С та інкубували протягом 24 годин.

При оцінці результатів вважали, що зразок БКС, легований певною концентрацією іонів срібла й міді спричиняє бактерицидний вплив на досліджувані мікроорганізми якщо у його присутності в лунці візуально не спостерігали росту бактерій (не було помутніння середовища) та при висіванні вмісту цієї коміри на щільне поживне середовище (кров'яний агар) через добу культивування в термостаті при 37 °С, також не спостерігали росту бактерій (у вигляді колоній).

Вважали, що зразок БКС, легований певною концентрацією іонів срібла й міді спричиняє бактеріостатичний вплив на досліджувані мікроорганізми,

якщо у його присутності в лунці візуально спостерігали наявність бактерій (було помутніння середовища), а при висіванні вмісту цієї лунки на щільне поживне середовище (кров'яний агар) через добу культивування в термостаті при 37 °C не спостерігався ріст бактерій (у вигляді колоній).

Усі досліди супроводжували відповідними контролями: контролем середовища на стерильність; контролем росту культури в середовищі без остеопластичного матеріалу.

Кожен з експериментів повторювали 9–10 разів. Отримані дані статистично обробляли: визначали середнє значення та його стандартне відхилення для кожної із досліджуваних груп матеріалів.

#### **2.4. Дослідження біосумісності та цитотоксичності**

Біосумісність зразків біокераміки *in vitro* оцінювали згідно критеріїв ISO 10993 за рахунок вивчення прямої та непрямой цитотоксичності синтезованих гранул матеріалу в культурі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (ММСК) жирової тканини людини [223]. Під ММСК людини розуміється субстрат-залежна фракція клітин зі строми будь-якої сполучної тканини, що відповідає критеріям, запропонованим М. Dominici зі співавт. у 2006 році [246].

За непрямого тесту вивчали вплив екстрактів зразків БКС на ці клітини. При визначенні прямої цитотоксичності вивчали безпосередню дію гранул матеріалу, що контактують з клітинною культурою. Дослідження виконані на базі лабораторії експериментального моделювання відділу клітинних та тканинних технологій ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України». Вітальні мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини жирової тканини людини (ММСК-ЖТ) отримували у достатній кількості з попередньо виділених і культивованих клітин банку стовбурових клітин лабораторії.

**Тест на непряму цитотоксичність з використанням екстрактів зразків біоактивного керамічного композиту.** Кожний зі зразків

біоактивного керамічного композиту попередньо стерилізували сухим жаром протягом 60 хвилин за температури у  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  та у кількості 100 мг на лунку (площею у  $9,6\text{ cm}^2$ ), розміщували по комітках 6-лункової плашки (Costar, США). Далі у кожен комірок зі зразками БКС заливали ростове середовище наступного складу: DMEM:F12 (Sigma-Aldrich, США), 10% ембріональної телячої сироватки (Sigma-Aldrich, США), по 100 МО/мл пеніциліну та стрептоміцину (Дарниця, Україна), 2 мМ *L*-глутаміну (Sigma-Aldrich, США) та витримували в  $\text{CO}_2$ -інкубаторі (Binder, Німеччина) протягом 24 годин за температури  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  і тиску у 5% атмосфер  $\text{CO}_2$  для отримання добового екстракту з відповідного зразка.

При цьому паралельно оцінювали наявність можливого негативного впливу складових зразків кераміки (не фізіологічно лужні/кислі) на рН-залежну зміну кольору ростового середовища, що містила феноловий червоний барвник (червоний при фізіологічному значенні рН 7,2–7,4), або у лужний бік (фіолетовий колір), або в кислий бік (жовтий колір).

Надалі, за добу, екстракти ростового середовища з кожної із комірок відбирали й у кількості 20% додавали до свіжого ростового середовища того самого складу. Культивовані ММСК-ЖТ людини 3-го пасажу засівали у кількості  $3,0 \times 10^4$  ( $\approx 3,1 \times 10^3$  клітин/ $\text{cm}^2$ ) клітин на лунку, що містила екстракт зі зразка БКС з ростовим середовищем. За такою схемою: по дев'ять лунок з  $3,0 \times 10^4$  ММСК-ЖТ на кожний екстракт (всього 45 лунок) та дев'ять лунок з контрольною культурою клітин, як вказано у таблиці 2.2. Засіяні таким чином плашки залишали в  $\text{CO}_2$ -інкубаторі (Binder, Німеччина) протягом трьох діб за температури  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  і тиску у 5% атмосфер  $\text{CO}_2$ .

**Експериментальні групи та методи оцінки цитотоксичності зразків  
біокераміки**

Групи / Тести	Непрямий	Прямий (100 мг матеріалу)
<b>Група 1</b> <i>контрольна, лише клітини</i>	культивовані ММСК-ЖТ	культивовані ММСК-ЖТ
<b>Група 2</b> <i>контрольна, БКС + клітини</i>	20% екстракт (БКС) + ММСК-ЖТ	гранули БКС + ММСК-ЖТ
<b>Група 3</b> <i>БКС 1 + клітини</i>	20% екстракт (БКС 1) + -//-	гранули БКС 1 + -//-
<b>Група 4</b> <i>БКС 2 + клітини</i>	20% екстракт (БКС 2) + -//-	гранули БКС 2 + -//-
<b>Група 5</b> <i>БКС 3 + клітини</i>	20% екстракт (БКС 3) + -//-	гранули БКС 3 + -//-
<b>Група 6</b> <i>БКС 4 + клітини</i>	20% екстракт (БКС 4) + -//-	гранули БКС 4 + -//-
<b>Група 7</b> <i>БКС 5 + клітини</i>	20% екстракт (БКС 5) + -//-	гранули БКС 5 + -//-

**Тест на пряму цитотоксичність зразків біоактивного керамічного композиту.** Кожний зразок БКС попередньо стерилізували сухим жаром протягом 60 хв. за 180 °С та у кількості 100 мг, попередньо зважених на торсійних вагах, на лунку, розміщували по комірках 6-лункової плашки (Costar, США). Заливали кожну лунку зі зразком БКС ростовим середовищем, що містив моношар культивованих ММСК-ЖТ людини 3-го пасажу в кількості  $\approx 3,1 \times 10^3$  клітин/см<sup>2</sup> назразок БКС за попередньою схемою: по дев'ять лунок з  $3,0 \times 10^4$  ММСК-ЖТ на кожний зразок БКС

(усього 45 лунок) та дев'ять лунок з контрольною культурою клітин (див. табл. 2.4). Засіяні таким чином плашки, також, залишали в CO<sub>2</sub>-інкубаторі (Binder, Німеччина) протягом трьох діб за 37°C і 5% атмосфері CO<sub>2</sub>.

**Вітальне забарвлення клітинних культур.** Для візуалізації клітин на оптично щільних гранулах зразків БКС застосовували метод прижиттєвого фарбування суспензії клітин розчином флуоресцеїна діацетата – *fluorescein diacetate*, FDA (Sigma-Aldrich, США) у ростовому середовищі протягом 5 хв. при кімнатній температурі у кількості 1 мл робочого розчину (5 мкмоль/л) барвника на лунку, надалі розчин зливали, культуру промивали та залишали у фосфатно-сольовому буфері (РАА, Австрія) і негайно мікроскопували. Життєздатні клітини визначалися за фібробластоїдною морфологією і зеленим флуоресцентним світінням при  $I_{ex} = 450\text{--}490$  нм,  $I_{em} = 520$  нм (*filter set 09*, Carl Zeiss, Німеччина).

Візуалізацію (методами інвертованої мікроскопії в світлі, що проходить, фазово-контрастної та флуоресцентної мікроскопії) і фотореєстрацію культур клітин проводили за допомогою інвертованого флуоресцентного мікроскопу Axio Observer A1, з програмним забезпеченням обробки зображення ZEN lite 2011 (*blue edition*) і цифрової камери Axio Cam ERc 5s (Carl Zeiss, Німеччина). Клітинні культури мікроскопували при 100-разовому збільшенні. При цьому, на третю добу підраховували загальну кількість життєздатних і мертвих клітин у кожній комірці з відповідної групи стандартним методом за допомогою камери Горяєва [54].

## 2.5. Експериментальні дослідження на лабораторних тваринах

Дослідження проведено на 72-х білих щурах лінії Вістар, 12-ти місячні самиці, лабораторії біохімії та віварію ДУ «Інститут стоматології НАМН України» (м. Одеса). Лабораторія атестована ДП «Одеський регіональний центр стандартизації, метрології та сертифікації» НРО – 643/2011 від 25.06.2011 року. Обрані для дослідження тварини були з середньою живою масою  $330\pm 15$  грам і їх утримували на звичайному раціоні у стандартних



умовах віварію. Контроль за утриманням лабораторних тварин здійснювали відповідно до Токійської декларації, Всесвітньої медичної асоціації і Міжнародних рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень.

Методологія дослідження включала внесення до експериментально змодельованого кісткового дефекту альвеолярної частини нижньої щелепи щурів запропонованих остеотропних композицій. Композиції ґрунтувалися на поєднанні біоактивної кераміки БКС та глікозаміногліканвмісного препарату «Алфлутоп». З цією метою були використані два види композицій у двох групах – основній та групі порівняння. В основній групі була використана остеотропна композиція, яка складалася з біокераміки легованої 1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді (БКС 3/ БКС<sub>лег</sub>) у поєднанні з препаратом «Алфлутоп». У групі порівняння була використана остеотропна композиція з біокераміки, такого ж хімічного складу, проте без легуючих додатків у поєднанні з тим же препаратом «Алфлутоп». У контрольній групі з метою подвійного контролю були використані щури з кістковим дефектом заміщеним ксеногенним остеопластичним матеріалом «Bio-Oss» (Geistlich AG, Швейцарія). Контрольною групою також слугували інтактні тварини, які перебували в тих же умовах віварію та годування.

У зв'язку з цим усі експериментальні лабораторні тварини було розподілено на п'ять груп:

У першу групу входили інтактні щури (8 голів), біохімічні маркери та морфологічна будова кісткової тканини яких визначалась за фізіологічну норму.

У другу групу входили тварини (16 щурів) з експериментально відтвореним дефектом альвеолярної частини нижньої щелепи, без заміщення остеопластичними матеріалами (хибно оперовані).

У третю (контрольну) групу входили тварини (16 щурів) з дефектом кістки, який заповнювали 25 мг контрольною остеотропною суспензією на основі матеріалу «Bio-Oss» (400 мг матеріалу «Bio-Oss», який замішували на

0,5 мл 0,9 %-ого натрію хлориду).

Четверта група (порівняння) щурів (16 голів) включала лабораторних тварин, яким експериментальний дефект кістки заповнювали 25 мг запропонованої остеотропної суспензії на основі модифікованої біокераміки (без додаткового легування): 400 мг БКС замішували на 0,5 мл препарату «Алфлутоп» (композиція № 1) до його повної абсорбції.

У п'яту (основну) групу входили тварини (16 голів) з дефектом кістки, який заповнювали 25 мг запропонованої остеотропної суспензії на основі модифікованої біокераміки, легованої іонами срібла та міді. Леговану біокераміку у кількості 400 мг замішували з 0,5 мл препарату «Алфлутоп» (композиція № 2) до його повної абсорбції.

Усі зразки керамічного композиту та остеопластичного матеріалу представляли собою стерильні гранули неправильної форми, розміром в межах 0,3–0,7 мм.

**Методика експериментального дослідження.** Дефект кісткової тканини нижньої щелепи щурів у всіх групах, окрім першої, формували під тіопенталовим наркозом (у розрахунку 20 мг/кг). Після оголення операційного поля і його обробки 3 %-им розчином йоду проводили розтин довжиною 1,5–2,5 см через шкіру, підшкірну клітковину, фасції на відстані 0,5 см від краю нижньої щелепи. Тіло і кут нижньої щелепи звільняли від оточуючих м'яких тканин та окістя. За допомогою фізіодиспенсера (Anthogyr, Франція) у найбільш товстому місці нижньої щелепи приблизно в ділянці переходу альвеолярної частини в тіло щелепи утворювали наскрізний дефект кістки зворотньококусним бором діаметром 4 мм, промиваючи струменем охолоджуючої рідини. Після цього дефект висушували сухим стерильним марлевым тампоном. Щурам третьої групи в дефект кістки за допомогою штопфера пухко вносили суспензію на основі «Bio-Oss», щурам четвертої групи в кістковий дефект вносили суспензію БКС нелегованого з препаратом «Алфлутоп» (композиція № 1), а щурам п'ятої групи – БКС, легованого іонами срібла та міді, з тим же препаратом (композиція № 2). Усі

медикаментозні композиції готували *ex tempore* у стерильному хірургічному тиглі.

Після внесення препаратів клапоть окістя вкладали на місце, на шкіру накладали шви шовним матеріалом Вікріл, який розсмоктувався протягом 15–20 діб.

Маніпуляції на тваринах виконували відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009 року) та з урахуванням правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальній і інших наукових цілях (European Convention, Страсбург, 1986).

Евтаназію восьми щурів з груп 2–5 здійснювали під тіопенталовим наркозом, 20 мг/кг на 10-й день досліду. Інших вісім щурів з кожної групи піддавали евтаназії на 30-й день. Евтаназію здійснювали шляхом тотального кровопускання, виділяли кісткову тканину в ділянці дефекту нижньої щелепи та зберігали при температурі – 30 °С.

У гомогенатах кісткової тканини (75 мг/мл 0,1 М цитратного буфера рН 6,1) визначали активність лужної фосфатази (ЛФ), кислої фосфатази (КФ) [103], загальну протеолітичну активність (ЗПА) за гідролізом казеїну при рН 7,6 [6], а також вміст розчинних білків за методом Лоурі [103]. Вміст кальцію і фосфору визначали в гомогенатах кісткової тканини, які готували на 0,1 N розчину HCl з розрахунку 50 мг/мл [103].

Для вивчення гістологічної будови регенерату у тварин (по дві з кожної групи) висічені ділянки кісткової тканини альвеолярних відростків, що відповідали ділянці експериментального дефекту, з оточуючими тканинами і, в деяких випадках, зубом фіксували в розчині нейтрального формаліну. Гістологічні дослідження проведені на базі лабораторії ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» (м. Одеса).

Декальцинацію здійснювали розчином соляної кислоти за Ебнером. До складу рідини Ебнера входило 200 мл 12–15% розчину кухонної солі та 4 мл міцної соляної кислоти. Фрагменти кісткової тканини поміщали в рідину та

щодня добавляли 2 мл соляної кислоти для підтримання первісної концентрації. По закінченню декальцинації, що відбувалася біля 1,5 місяця, тканини розміщували у 15% розчині кухонної солі, який щоденно змінювали. Далі промивали матеріал у проточній воді протягом 3-х діб. Подібний тип декальцинації є найбільш «м'яким» і не приводить до суттєвого окислення тканин, що дозволяє провести наступне якісне забарвлення тканин.

Після декальцинації та промивання матеріал заливали в парафін за наступною методикою. Фіксовані та декальциновані тканини після зневоднення в спиртах зростаючої міцності (96% етаноловий та абсолютний спирти) переносили в суміш абсолютного спирту та хлороформу на 12 годин, а потім учистий хлороформ на той же час. Об'єкти, оброблені хлороформом, просочували парафіном. Для цього першочергово матеріал розміщували в суміш парафіну та хлороформу на 3 години при температурі 37 °С. Потім тканини переносили в чистий розплавлений парафін при температурі 62 °С на 8 годин. При цьому парафін змінювали кілька разів для видалення хлороформу. Із просочених парафіном тканин формували блоки для подальшого приготування зрізів.

Зрізи, товщиною 10–12 мкм, формували на мікротомі за стандартною методикою [90]. Депарафіновані та зневодненні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином (за Гаррісом). Для цього зрізи вміщували у розчин гематоксиліну на 20 хвилин. Потім зрізи промивали дистильованою водою і диференціювали в розчині 1% соляної кислоти, промивали та поміщали у розчин еозину на 2 хвилини. Після промивання у воді і зневодненні в спиртах зрізи просочували карбол-ксилолом, ксилолом та укладали у бальзам [134].

Мікроскопічне дослідження, отриманих таких чином, гістологічних препаратів проводили з використанням мікроскопу Jenamed 2 (Jenoptik AG, Німеччина), а фотореєстрацію зображень здійснювали за допомогою цифрової камери Canon EOS 5D (Canon Inc., Японія).

## 2.6. Комплексне лікування хворих на генералізований пародонтит

Лікування хворих на генералізований пародонтит проводили згідно протоколів лікування, затверджених МОЗ України (2007 рік) з використанням медикаментозних, хірургічних, ортопедичних, ортодонтичних і фізіотерапевтичних заходів. При складанні плану лікування хворих на генералізований пародонтит дотримувались принципів цілеспрямованості та максимальної індивідуалізації такого лікування.

Пріоритетна роль у комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит та усуненні пародонтальних кишень належала хірургічним втручанням. Їх виконували за показаннями в об'ємах визначених планом лікування.

Обов'язковими етапами місцевого та загального лікування хворого на генералізований пародонтит II та III ступеня, було: виконання гігієнічних програм, проведення професійної гігієни, під'ясенний скейлінг, полірування оголених поверхонь коренів зубів у повному обсязі, санація порожнини рота (у т.ч. видалення зубів з патологічною рухомістю за показаннями), лікування та підготовка (у разі необхідності депульпування) зубів у ділянках хірургічного втручання, оклюзійна реабілітація (тимчасова або постійна іммобілізація рухомих зубів, усунення вогнищ первинної та вторинної травматичної оклюзії, відновлення оклюзійних взаємовідношень), протизапальна, антибактеріальна, гіпосенсибілізувальна медикаментозна терапія, мінерало- та вітамінотерапія (комплексні препарати кальцію і вітаміну D, вітамінів А, Е тощо).

Визначали критерії готовності до хірургічного лікування: суттєве зниження запальних явищ в яснах (за індексними показниками РМА та РВІ), відсутність гнійної ексудації з пародонтальних кишень, дотримання пацієнтами індивідуальної гігієни (за індексами гігієни ОНІ-S та FMPS), завершення санації порожнини рота.

Після завершення хірургічного лікування за наведеною нижче схемою, виготовляли постійні ортопедичні конструкції, спрямовані на відновлення

цілісності зубних рядів чи постійного шинування в необхідних об'ємах за показаннями. У подальшому усі пацієнти знаходились на диспансерному нагляді до ремісії та остаточної стабілізації процесу. Для оцінки ефективності комплексного лікування проводили клініко-лабораторні дослідження та рентгенографію альвеолярних відростків щелеп.

Ефективність проведеного хірургічного лікування в комплексній терапії оцінювали на підставі клініко-рентгенологічних та остеометричних даних. Позитивними вважали результати, що характеризувались відсутністю скарг з боку пацієнтів, відновлення контуру ясен у ділянці оперативного втручання, усунення або значним зменшенням глибини пародонтальних кишень, зменшенням рівня втрати клінічного прикріплення, відновленням кісткової тканини за даними рентгенологічних досліджень. При подальшому аналізі результатів лікування враховували наступні критерії неефективності хірургічних методів: наявність дискомфорту після лікування, можливі ускладнення (ознаки запалення чи явища відторгнення остеопластичних матеріалів), рецесія ясенного краю, відсутність рентгенологічних ознак репаративної регенерації тканин пародонта, рецидив пародонтальних кишень.

Отримані результати лікування оцінювали на основі даних комплексного обстеження безпосередньо у ранній післяопераційний період: до 14 діб. У подальшому віддалені результати лікування оцінювали в терміни 3, 6 та 12 місяців. Динаміку змін кісткової тканини в ділянці оперативного втручання визначали на підставі рентгенологічних методів, вище зазначеними способами.

### **2.6.1. Методика проведення хірургічного втручання**

За три доби до оперативного втручання пацієнтам призначали курс вітамінотерапії (вітамін С по 500 мг – 1 раз на день, перорально). Місцево проводили антисептичну обробку порожнини рота тричі на день гексетидинвмісним комбінованим препаратом («Гівалекс», Norgine Pharma,

Франція). Безпосередньо перед втручанням знімали над'ясенні відкладення, особливо ретельно у передопераційних ділянках.

Хірургічне лікування здійснювали у один прийом під місцевою анестезією (похідні артикаїну гідрохлориду). У деяких випадках, при певних обставинах, і за показаннями (наприклад, значний передопераційний страх, лабільність психіки тощо) проводили додаткову седативну підготовку пацієнтів під контролем лікаря-анестезіолога.

Після проведення адекватної анестезії, формували повноцінні слизово-окістні клапти з вестибулярної та оральної поверхонь альвеолярного відростка щелеп за модифікованою технікою Widman [268]. При цьому дотримувались принципів максимального збереження кровопостачання та контуру міжзубних сосочків (різні модифікації сосочкозберігаючої методики, за наявності відповідних умов) [112, 167, 168]. В окремих випадках, за наявності глибоких пародонтальних кишень, проводили додаткові вертикальні розтини для формування відкидних клаптів. Видаляли інфіковану грануляційну тканину, тяжі пророслого епітелію та під'ясенний зубний камінь. Ретельно очищали і полірували оголені поверхні коренів зубів за допомогою ручних кюрет та ультразвукового скейлера. Після закінчення кюретажу хірургічних ділянок проводили оцінку морфологічної будови пародонтальної кісткової кишені та відповідні виміри: 1) внутрішньокісткового компоненту, 2) рівня збереженої альвеолярної кістки, 3) глибини дефекту та 4) його ширини; 5) визначали тип кишені (одно-, дво-, тристінкова, комбінована чи циркулярна). Пародонтальні дефекти з шириною  $\leq 3$  мм і глибиною  $\leq 4$  мм у дослідження не залучали.

Залучені до дослідження кісткові кишені навмання розподіляли між групами та проводили їх хірургічне лікування за принципами СТР. Усі інші пародонтальні кишені заповнювали лише остеопластичними матеріалами відповідно до клінічної групи, без перекриття останніх бар'єрними мембранами.

Загальна кількість зубів з пародонтальними кишнями у ділянці яких

проведене оперативне лікування (клаптеві операції з кістковою пластикою) склала 432 одиниці, середня кількість на одного пацієнта –  $7,85 \pm 0,23$  зубів.

У цілому методом СТР було проведене хірургічне лікування у ділянці 56 внутрішнькісткових пародонтальних кишень у хворих на генералізований пародонтит II та III ступеня. У тому числі 26 (46,4%) з них були розміщені на верхній щелепі та 30 (53,6%) – на нижній щелепі. Серед зубів у ділянці яких локалізувалися досліджуванні кишень переважали передні – 35 (62,5%) зубів, а бічні склали 21 (37,5%) зуб. В основній групі було прооперовано методом СТР 27 (48,2%) кишень і в контрольній групі – 29 (51,8%) кишень.

Розподіл пародонтальних кишень між клінічними групами пацієнтів і групами зубів представлений у табл. 2.3.

Таблиця 2.3

**Розподіл пародонтальних кишень  
між клінічними групами та групами зубів**

Клінічна група	Кількість		Кількість зубів			
	Пацієнтів	Пародонталь- них кишень	Ділянка		Верхня щелепа	Нижня щелепа
			Передня	Бічна		
Основна група	23	27	18	9	10	17
%	48,9	48,2	32,2	16,1	17,8	30,4
Контрольна група	24	29	17	12	16	13
%	51,1	51,8	30,4	21,4	28,6	23,2
У цілому	47	56	35	21	26	30
%	100	100	62,5	37,5	46,6	53,3

У основній групі застосовували запропонований спосіб хірургічного лікування внутрішнькісткових пародонтальних кишень у хворих на



генералізований пародонтит, що ґрунтується на принципах спрямованої регенерації тканин пародонта. Виконували біомеханічну обробку оголеної поверхні коренів зубів шляхом аплікації кондиціонеру «PrefGel» (Straumann, Швейцарія, свідоцтво про державну реєстрацію № 11878/2012), на основі 24% етилендіамінотетраоцтової кислоти (ЕДТА). Цемент кондиціонували протягом 2–3 хвилин з подальшим змиванням. Після ретельного промивання фізіологічним розчином, порожнину кісткового дефекту пухко заповнювали запропонованою остеогенною композицією у межах контуру альвеолярного відростку щелеп: гранули (розміром 0,3–0,8 мм) біокерамічного композиту БКС, легованого іонами срібла та міді, у комбінації з розчином препарату «Алфлутоп». Цю суміш препаратів (БКС<sub>лег</sub> та «Алфлутоп») замішували у підібраній пропорції 4:1 *ex tempore* у стерильному хірургічному тиглі протягом 10–15 хвилин, до повного всмоктування рідкого компоненту гранулами біокераміки. У подальшому адаптували до меж пародонтального дефекту, розміщували та фіксували бар'єрну мембрану «Bio-Gide» (Geistlich AG, Швейцарія, свідоцтво про державну реєстрацію № 6045/2007). Залишки розчину «Алфлутопа» використовували для змочування попередньо адаптованої бар'єрної мембрани.

На розроблений спосіб хірургічного лікування внутрішньокісткових пародонтальних кишень у хворих на генералізований пародонтит отриманий патент України на корисну модель: О.С. Лисенко, А.В. Борисенко. Спосіб хірургічного лікування внутрішньокісткових пародонтальних кишень у хворих на пародонтит, № 99721, від 25.06.2015 року.

У контрольній групі, дефект заповнювали 0,25–1 міліметровими гранулами ксеногенного матеріалу «Bio-Oss» (Geistlich Pharma AG, Швейцарія, свідоцтво про державну реєстрацію № 6046/2007) просякнутими кров'ю пацієнта та також перекривали бар'єрною мембраною, але просякнутою фізіологічним розчином.

В обох групах мембрани фіксували до сусідніх зубів, слизово-окісні клапті укладали на місце з максимально можливим щільним співставленням

країв ран і міжзубних сосочків без натягу, за необхідності клапті попередньо мобілізували. Рани ушивали за допомогою монофіламентного (розмір 5/0) шовного матеріалу, що не резорбується, вузловими та пародонтологічними швами.

У післяопераційному періоді всім пацієнтам рекомендували продовження антисептичної обробки порожнини рота та вітамінотерапію протягом одного-двох тижнів. Призначали локальну гіпотермію протягом першої доби, на 7–10 хвилин через кожні 20–25 хвилин. Протягом перших семи днів пацієнтам не дозволяли використовувати механічні засоби індивідуальної гігієни (зубні щітки та нитки, інтердентальні йоржики, іригатори тощо) у ділянці втручання, проте допускали обережне очищення тільки оклюзійних поверхонь зубів м'якою зубною щіткою. Продовжували вітамінотерапію й антисептичну обробку порожнини рота, через день після оперативного втручання за попередньою схемою. За наявності больового синдрому та виражених запальних явищ (підвищення температури тіла, значна гіперемія, набряк рухливих ясен і оточуючих слизових оболонок) призначали нестероїдні протизапальні препарати німесулід за загальноприйнятою схемою («Німесил», «Месулід» тощо).

На етапах післяопераційного догляду, при лікарському огляді, здійснювали медикаментозну обробку ранових поверхонь 0,05% розчином хлоргексидину біглюконату протягом двох тижнів. Через 10–14 днів шви знімали.

При виявленні ознак розходження країв ран і експозиції мембран пацієнтам призначали антибіотикотерапію протягом 7–10 днів, двічі на добу, перорально (по 625 мг комбінованого препарату на основі амоксициліну (500 мг) та клавуланової кислотою (125 мг) – «Амоксиклав», «Аугментин», «Амоксил-К»).

Через 7 днів, 14 днів та 6 тижнів усім пацієнтам проводили обережне видалення над'ясенних зубних відкладень ультразвуковим скейлером і за необхідності підсилювали індивідуальні гігієнічні заходи. Рекомендували до

використання міжзубні йоржики, нитки, іригатори. Підтримувальну терапію призначали в терміни 3, 6, 9 та 12 місяців. Клінічні етапи її полягали в оцінці поточного пародонтологічного статусу, контролю якості виконання індивідуальних гігієнічних процедур, професійному видаленні зубних відкладень з поверхні коронок і коренів, поліруванні пломб і поверхонь зубів, використанні фторовмісних систем для профілактики карієсу та, за показаннями, десенситайзерів. Протягом перших 6 місяців після хірургічного лікування у відповідних ділянках уникали під'ясенних маніпуляцій. В усі терміни відвідування реєстрували несприятливі явища (інтенсивне утворення біоплівки, рецесія ясен, ексудація з пародонтальних кишень сусідніх ділянок), включаючи післяопераційні ускладнення.

### **2.6.2. Обробка, інтерпретація та оцінка даних томографічного обстеження на етапах лікування**

З метою покращення результативності оцінки рентгенологічних даних репарації кісткової тканини була застосована остеометрія та денситометрія кісткової тканини у ділянці досліджуваних пародонтальних кишень. Ця методика ґрунтується на можливостях прикладної комп'ютерної програми «SimPlant Pro» (ver. 11, Materialise, Бельгія). За допомогою інструментів програми здійснювали оцінку топографічних особливостей пародонтальних кишень, визначали лінійні розміри внутрішньокісткового компонента, уточнювали та корелювали з клінічними даними величину втрати прикріплення. Денситометричний аналіз проводили для визначення щільності кісткової тканини в аугментаті, що утворився через 12 місяців після операції спрямованої тканинної регенерації.

Для отримання рентгенологічних даних без лінійних спотворень було застосовано комп'ютерну томографію. Розрахунок рентгенологічної щільності кісткової тканини визначеного сегменту альвеолярного відростка щелеп здійснювали за денситометричними показниками значень сірого за шкалою одиниць G.N. Hounsfield (*Hounsfield Units*, HU). Методика має

наступні етапи: сканування пацієнта; отримання, сегментація та побудова три вимірною зображення; визначення лінійних розмірів досліджуваних об'єктів, безпосередня денситометрія кісткової тканини [16].

Томографічне обстеження пацієнтів напередодні хірургічного втручання та через 12 місяців здійснювали за допомогою мультиспірального комп'ютерного томографа (Toshiba Osteanin, Японія).

Сканування пацієнта (верхньої, нижньої або обох щелеп) проводили за стандартною методикою комп'ютерної томографії (КТ), що ґрунтується на принципі математичного моделювання рентгенівського зображення з наступною побудовою певних «КТ-зрізів» досліджуваної ділянки на екрані монітору. Отримані КТ-зрізи інтерпретували в об'ємну модель анатомічного об'єкту, тобто проводили об'єднання певних пікселів визначеної щільності у об'ємні структури – вокселі. Це дозволяло виконати послідовні тривимірні реконструкції для тканин пацієнта різної щільності зі збереженням своїх розмірів і положення у просторі без суттєвих геометричних спотворень.

Отримані дані у вигляді DICOM файлів імпортували та конвертували у внутрішній формат комп'ютерної програми «SimPlant Pro», а потім сегментували (розділяли на групи залежно від шкали сірого). Сегментація даних відбувалася за допомогою внутрішнього програмного інструменту «Segmentation/Threshold» у межах одиниць HU від 250 і 500, для верхньої та нижньої щелеп, до 3071. Таким чином, усі вокселі, що потрапили у цей діапазон значень сірого, були виділені в окрему маску об'єкта [16].

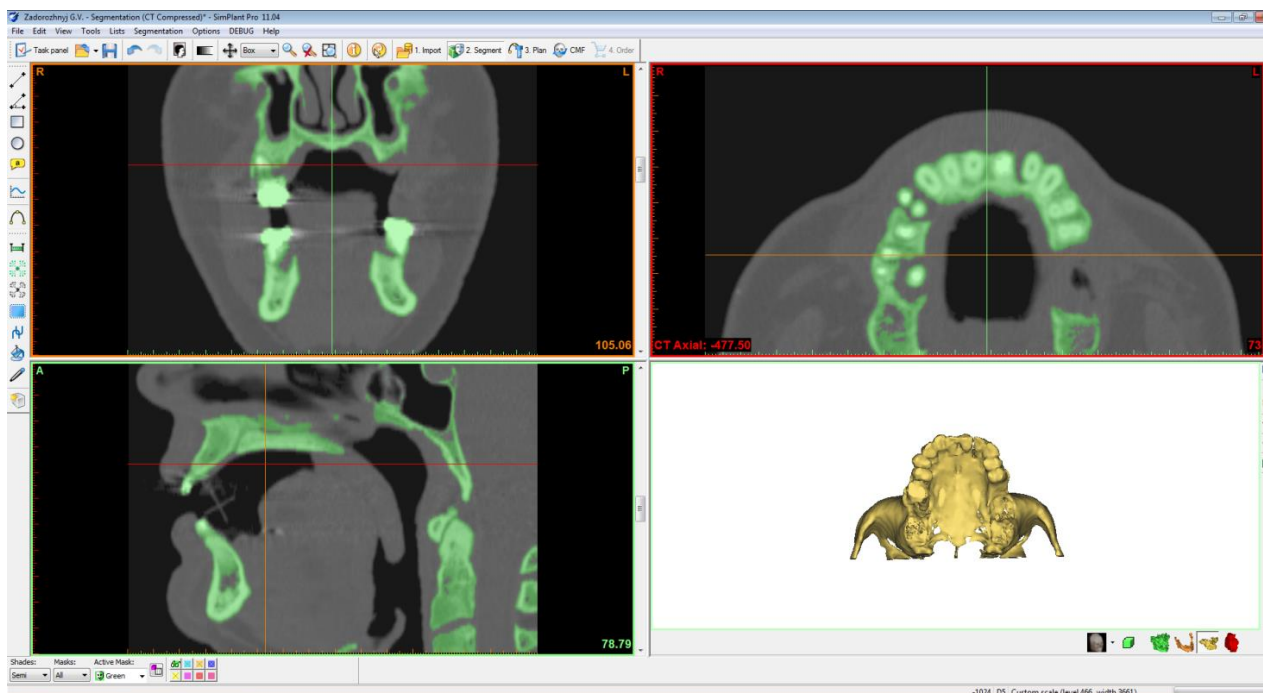
Лінійну остеометрію та денситометрію кісткової тканини в ділянці пародонтальних дефектів проводили безпосередньо на отриманих зрізах за допомогою програмного інструменту «Profile Line». Профільні лінії накладали на аксіальних зрізах у сагітальному напрямку, а на фронтальних – у вертикальному напрямку, що відповідало довгій осі коренів зубів. Початкова та кінцева точки лінії визначались за кортикальними пластинками комірки або межами внутрішньокісткової частини пародонтальної кишені, що обмежують пародонтальний дефект.

У разі наявності геометрично складного контуру альвеолярного відростка щелеп профільні лінії прокладали на трьох рівнях зубів, що оточують пародонтальний дефект – пришийкові ділянки зубів, середина довжини коренів, верхівки коренів. В подальшому проводили розрахунок середнього значення щільності кісткової тканини на вибір, що як опція задана у програмі. При градації щільності кісткової тканини (залежно від типу) задається конкретний інтервал одиниць НУ.

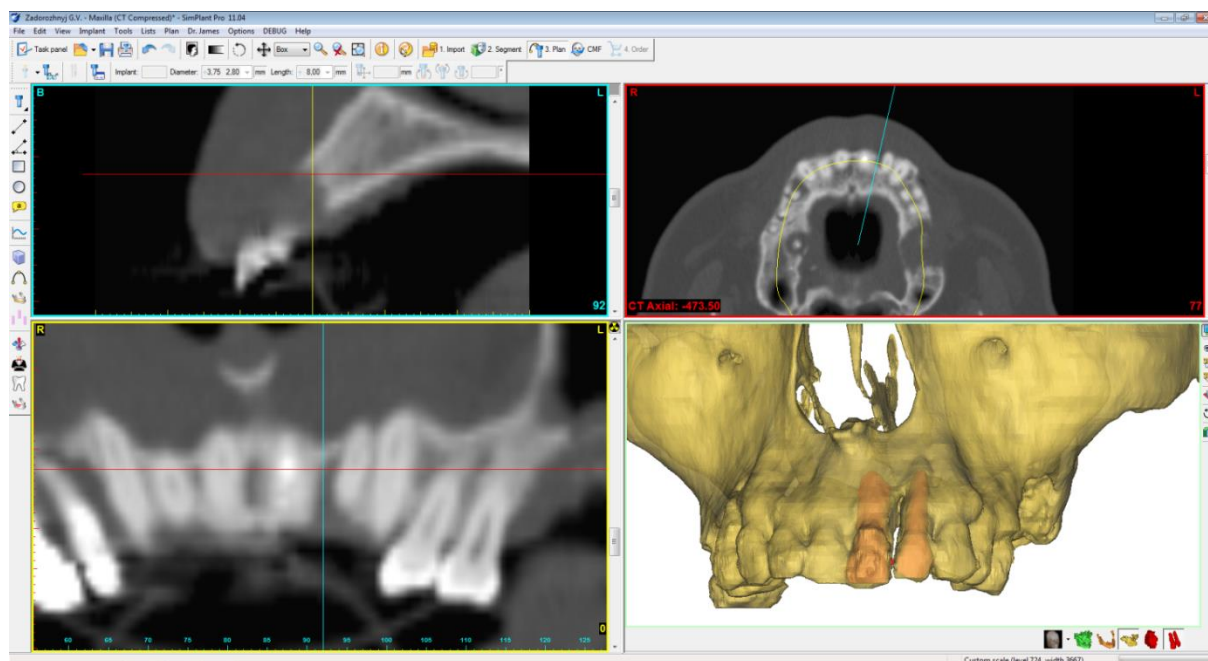
Згідно запропонованого алгоритму (Патент України на корисну модель: Р.Г. Оснач, О.С. Лисенко, О.В. Беда. Спосіб визначення рентгенологічної щільності кістки в ділянці дефекту зубного ряду, № 90211, від 12.05.2014 року) здійснювали розрахунок та порівняння середніх показників щільності профілю кісткової тканини міжкоміркових перегородок досліджуваних ділянок у клінічних групах.

Наприклад, при визначенні остеоденситометричних показників у пацієнта З., 1969 р.н. з генералізованим пародонтитом III ступеня (амбулаторна карта хворого № 231, м. Київ), у ділянці, залученої в клінічну групу спостереження, пародонтальної кишені біля 22 зуба на отриманій тривимірній моделі верхньої щелепи прокладено панорамну криву («Panoramic Curve»). Вона дозволяє на основі автоматично заданих аксіальних, фронтальних і сагітальних зрізів провести розрахунок тонких зрізів (0,5–1 мм) у поперечній та панорамній проекціях (рис. 2.2, 2.3).

Денситометрію кісткової тканини альвеолярного відростка в ділянці пародонтальної кишені проведено безпосередньо на отриманих зрізах за допомогою відповідного програмного інструменту («Profile Line»). Профільні лінії накладено на поперечних зрізах у сагітальному та вертикальному напрямках посередині альвеолярного відростка згідно довгої осі зуба та перпендикулярно до неї.

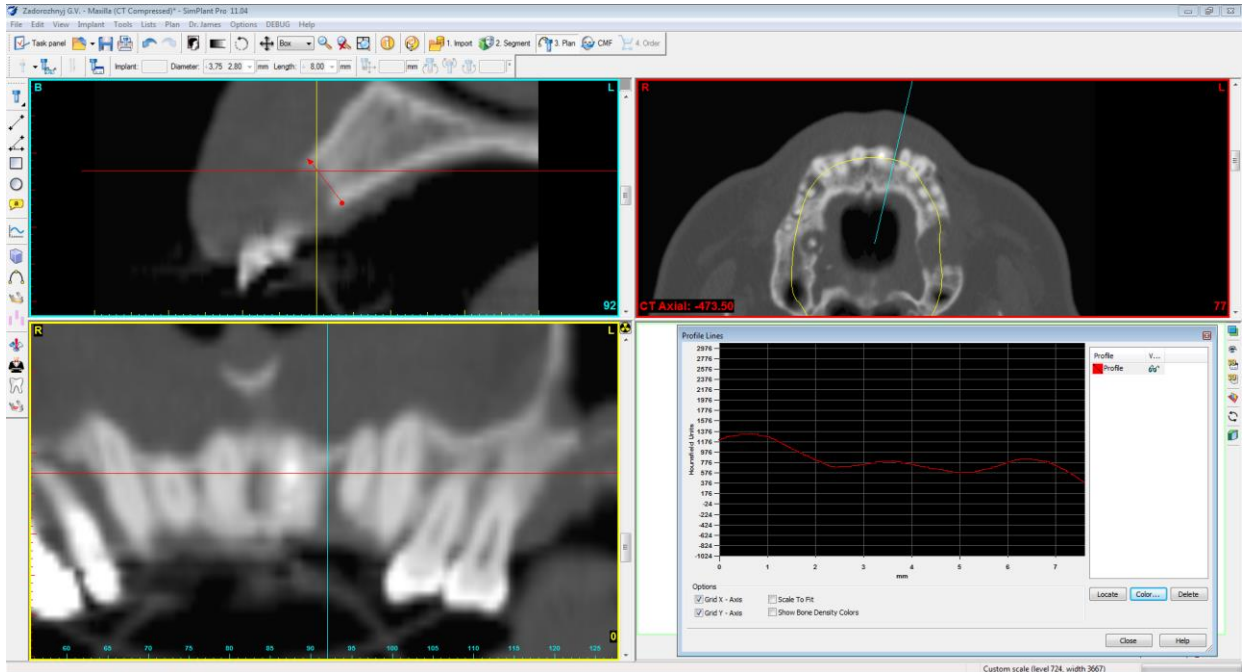


*Рис. 2.2. Інтерфейс комп'ютерної програми «SimPlant Pro», етапи обстеження пацієнта З., 1969 р.н. Отримання тривимірної репродукції верхньої щелепи, двовимірних проекції згідно томографічного обстеження.*



*Рис. 2.3. Інтерфейс комп'ютерної програми «SimPlant Pro» Прокладання панорамної кривої та створення поперечної і панорамної проекції верхньої щелепи.*

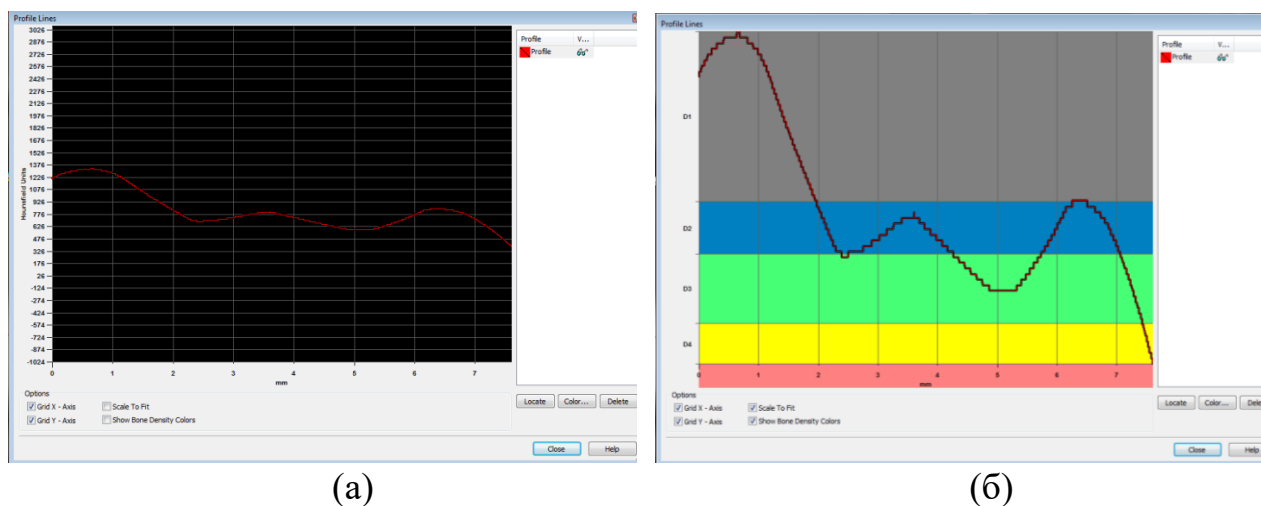
При цьому, початкова та кінцева точки профільних ліній визначаються зовнішніми кортикальними пластинками альвеолярного відростка у сагітальному напрямку або товщю губчастої кістки у проекції кореня зуба та дном кісткової кишені у вертикальному напрямку (рис. 2.4).



*Рис. 2.4. Інтерфейс комп'ютерної програми «SimPlant Pro» пацієнта З., 1969 р.н. Прокладання профільної лінії на поперечних зрізах у сагітальному напрямку в ділянці пародонтальної кишені 22 зуба. Графік зміни значень щільності структур кістки (в одиницях HU).*

Після прокладання профільних лінії у відповідному діалоговому вікні програми відображається графік зміни значень щільності структур кістки (в одиницях HU) через які проведено задану профільну лінію з визначенням її довжини.

Отриманий графік масштабували та на його структуру накладали кольорову схему розподілу щільності кісткової тканини, відповідно до градації, що як опція задана у програмі (рис. 2.5).



*Рис. 2.5. Масштабування графіку (а – до, б – після).*

Певній щільності кісткової тканини (D1–D5) задавали інтервал одиниць HU згідно параметрів програми(рис. 2.6).

Bone Density Types

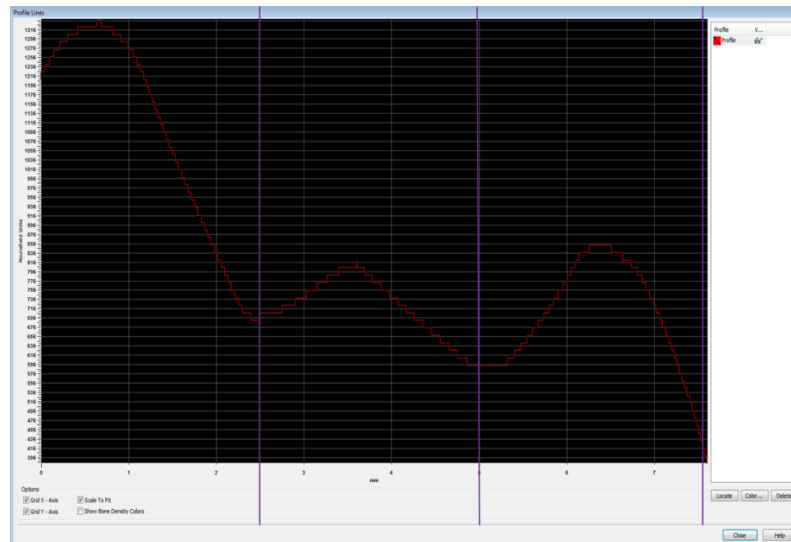
Classification: Lekholm&Zarb (as reviewed by Norton&Gamble)

Type D1:	higher than	<input type="text" value="851"/>	HU		
Type D2:	between	<input type="text" value="701"/>	HU	and	<input type="text" value="850"/>
Type D3:	between	<input type="text" value="501"/>	HU	and	<input type="text" value="700"/>
Type D4:	between	<input type="text" value="1"/>	HU	and	<input type="text" value="500"/>
Type D5:	less than				<input type="text" value="0"/>

*Рис. 2.6. Встановлення конкретного інтервалу одиниць HU.*

З метою отримання середнього значення щільності тканини в ділянці визначеного сегменту окрему профільну лінію віртуально поділяли на три рівні відрізки. Через них прокладали вертикальні лінії перпендикулярні до графіка у діалоговому вікні програми (рис. 2.7).





*Рис. 2.7. Розподіл графіка у діалоговому вікні програми на сегменти для визначення середніх значень щільності досліджуваних тканини.*

У точках перетину вертикальної лінії з кривою графіка визначали найменшу щільність кісткової тканини (в одиницях HU) у цьому відрізку, а за максимальну приймали найвище значення кривої у відрізку.

Виконуючи подібні розрахунки у двох останніх відрізках отримано середні значення на основі яких виводили загальне середнє значення денситометрії кістки альвеолярного відростка в ділянці наявної пародонтальної кишені. Визначені середні параметри денситометричних одиниць на прикладі пацієнта З., 1969 р.н. представлені в таблиці 2.4.

*Таблиця 2.4*

**Показники середніх значень одиниць щільності кісткової тканини згідно з томографічним дослідженням (одиниці, HU)**

Відрізок (загальна довжина 7,5 мм)	Діапазон одиниць щільності (HU)		Середнє значення одиниць щільності (HU)	Середнє значення щільності у відрізку (HU)
	Max	Min		
№ 1 (2,5 мм)	1326	696	1011	786
№ 2 (2,5 мм)	816	596	706	
№ 3 (2,5 мм)	856	426	641	

Визначений середній денситометричний показник кісткової тканини в ділянці дефекту складав 786 HU, що відповідає нижній межі типу D2 за класифікацією U. Lekholm та G. A. Zarb [234].

Такий спосіб розрахунку денситометричних показників кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп у ділянках внутрішньокісткових пародонтальних дефектів використовували у всіх пацієнтів груп спостереження до проведення клаптевих операцій, на етапі планування операційного втручання оцінки топографії кісткових кишень. Визначали істотні маркери: рівень кортикальних пластинок, лінійні розміри коренів зубів, що оточують дефект, інші анатомічно важливі структури. Через 12 місяців після лікування згідно цих маркерів на отриманих нових дво- та тривимірних реконструкціях проводили розрахунки, за зазначеним алгоритмом, у цих же ділянках.

Використаний спосіб був застосований для оцінки динаміки змін показників денситометрії кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп у визначених ділянках до та після лікування, порівняльної характеристики ступеня мінералізації тканин після застосування під час хірургічного лікування досліджуваних остеопластичних матеріалів.

## **2.7. Статистична обробка отриманих даних**

Математична обробка отриманих клінічних і експериментальних даних включала дослідження статистичних характеристик отриманих вибірок [56]. Для цього виконували оцінку варіант, що «вискакували», з виключенням вихідних варіант за межі довірчого інтервалу. Перевірку закону розподілення варіант виконували розрахунком достовірності вибірових показників асиметрії та ексцесії. Вибір критеріїв екстраполяції і оцінки оптимального об'єму вибірки виконували на основі традиційних методик [56]. Оцінку варіабельності та рівномірності розподілення здійснювали за ступенем розсіювання ознак (не більше 20%).

Надалі розраховували середнє значення варіанти  $M$ , середнє квадратичне відхилення  $\delta$ , середню похибку середнього значення  $m$ . Для встановлення істотності відмінностей у двох зв'язаних вибірках використовувався парний параметричний критерій Стюдента, при порівнянні незв'язаних вибірок – непарний критерій [33]. Для повторних параметричних вимірів використаний однофакторний та багатофакторний дисперсний аналіз (ANOVA), а для повторних непараметричних вимірів – критерій Фрідмана.

Гіпотеза відмінності середніх значень вибірок визнавалась вірною, якщо розрахункове значення перевершувало критичне при заданому рівні значимості у 0,95 ( $p < 0,05$ ). Розрахунки проводили з використанням персонального комп'ютера і прикладної програми по роботі зі статистичними даними Statistica 10.1 (StatSoft Inc., США) [82].

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЗРАЗКІВ БІОАКТИВНОГО КЕРАМІЧНОГО КОМПЗИТУ

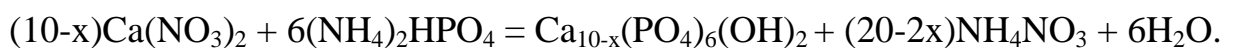
#### **3.1. Модифікація біоактивного керамічного композиту**

У нашому експериментальному дослідженні було поставлено завдання створення кальцій-фосфатного керамічного нанокompозиту для лікування кісткових дефектів щелеп та інших кісток організму. Він повинен бути повністю біосумісним, швидко інтегруватися з кістковою тканиною та володіти остеокондукцією. Для цього дослідження була використана модифікація вітчизняного біоактивного керамічного композиту для відновлення кісткової тканини «Синтекість» (ТУ У 33.1-31280163-001:2005, виробник ТОВ «Промтехрезерв», Київ, Україна; свідоцтво про державну реєстрацію № 3653/2005), що представляє собою мікропористі гранули розміром від 300 до 1000 мкм.

На запропоновану модифікацію біокерамічного композиту «Синтекість» (далі – БКС) отриманий патент (Патент України на корисну модель: О.С. Лисенко, О.В. Дубок, О.В. Шинкарук. Керамічний нанокompозит для пластики дефектів кісткової тканини з мультифункціональними властивостями, № 96873, від 25.02.2015 року). На відміну від гідроксиапатиту він регульовано біотрансформується у задані терміни з утворенням повноцінної кісткової тканини, не заважає формуванню кровоносних судин у процесі біорезорбції. БКС достатньо пористий та придатний для введення до його складу різних компонентів: факторів росту, мезенхімальних стромальних фракцій, мультипотентних стовбурових клітин, кров'яних екстрактів/витяжок, кісткових фрагментів пацієнта (автологічної кістки) для регулювання біоактивності, а також лікарських препаратів для розширення його терапевтичних можливостей. Цей біокompозит містить

додаткові складові, що мають антибактеріальні властивості. Інтенсивність і термін їх дії (постійна дія на увесь час біорезорбції, дія тільки на початковій стадії до загоєння операційної рани з наступним зменшенням або повним нівелюванням) можна регулювати технологією приготування кераміки. Складові компоненти біокомпозиту мають стимулювальні властивості, сприяють репаративним процесам необхідним для формування нової кісткової тканини.

Завдання вирішувалося шляхом використання в біокомпозиті кількох неорганічних фаз, а саме гранул двофазного гідроксиапатит-трикальційфосфатного (ГАП-ТКФ) нанокompозиту і гранул біоактивного ситалу вибраного складу. Ці компоненти метаболізуються в організмі за різними механізмами: гідроксиапатит (ГАП) і трикальційфосфат (ТКФ) – шляхом клітинного метаболізму; біоактивний ситал – переважно шляхом хімічного розчинення. Залучення різних процесів метаболізму значно прискорює загальний процес біотрансформації і сприяє рівномірній васкуляризації місця імплантації. Двофазний нанокompозит з гідроксиапатит-трикальційфосфату утворюється шляхом синтезу – методом хімічного осадження нестехіометричного кальцій дефіцитного гідроксиапатиту, за наступною реакцією:



При подальшому прожарюванні при температурі 550–750 °С кальцій-дефіцитний гідроксиапатит розкладається на двофазний нанокompозит. Розмір зародків цих кристалів на початковій стадії розкладу нестехіометричного гідроксиапатиту становить доли нанометру і зростає при підвищенні температури і часу відпалення. При прожарюванні за температури 750 °С протягом однієї години розмір наночастинок гідроксиапатиту і трикальційфосфату становить близько декількох десятків нанометрів. Обрана технологія гарантує найвищу рівномірність змішування наночастинок цих різних фаз і найвищу очистку від залишків зайвих компонентів маточного розчину, які майже завжди присутні в нанорозмірних

фосфатах кальцію. Нанорозмірність двофазного нанокompозиту гарантує повноту резорбції обох його компонентів, хоча з різною швидкістю.

Регулювання умов цієї реакції дозволяє отримувати будь-яке співвідношення ГАП/ТКФ в синтезованому композиті, в цьому випадку було використане співвідношення ГАП/ТКФ = 1:1.

Біоактивний ситал отримували шляхом ретельного механічного перемішування компонентів або сполук, які містять їх в певній кількості. Його проводили в фарфоровому барабані з розмольними тілами, або шляхом перемішування розчинів солей, які містять ці компоненти. У подальшому проводили випаровування, висушування, перемішування, пресування брикетів, прожарювання їх в повітрі при температурі 800 °С і плавлення брикетів при 1300 °С. Далі їх подрібнювали з розмелюванням плавленого ситалу і формуванням з отриманого порошку гранул потрібного розміру, наприклад, гранул діаметром 0,3–0,8 мм для заміщення пародонтальних дефектів кісткової тканини щелеп. Хімічний склад компонентів обраного біоактивного ситалу наведений у табл. 3.1.

*Таблиця 3.1*

**Розподіл компонентів фосфат-силікатного ситалу у складі БКС**

Компонент	Масова частка (мас.%)
SiO <sub>2</sub>	37
CaO	36
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	13
MgO	3
K <sub>2</sub> O	0,5
ZnO	4,5
B <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	6

Отримані після спікання керамічні фрагменти подрібнювали і шляхом розсіювання формували з них фрактальні гранули з необхідним діапазоном

розмірів. Для формування сферичних пористих гранул ситалу з підвищеною пористістю переплавлену склокераміку розмелювали і просіювали через сито з отвором менше 0,1 мм. Потім формували з цього порошку гранули, з наступним спіканням їх у повітрі при температурі 870–920 °С.

З метою усунення негативних впливів на рівень рН оточуючого середовища (його зростання у лужному напрямку при використанні склокерамічної фракції), синтезовані гранули кераміки відмочували у буферних розчинах (фізіологічний розчин хлориду натрію) протягом декількох діб з наступним висушуванням при температурі 50–60 °С. Це призводило до зниження змін рН, що виникають у зв'язку з підвищеним лужним потенціалом склокераміки на межі її зламів: з 9,2–9,4 до слабо лужного або фізіологічно нейтрального значення.

Наведена технологія дозволяє легування компонентів композиту іншими неорганічними домішками, що може бути використано для регулювання процесів біотрансформації і властивостей новоутвореної кістки.

Введення домішок срібла і міді в кальцієфосфатний керамічний нанокompозит проводили шляхом насичення його складової – гранул двофазного гідроксиapatит-трикальційфосфатного (БФК) нанокompозиту (фрактальних або високопористих) розчинами нітратів срібла і міді (або інших розчинних солей) шляхом кип'ятіння так, щоб загальна кількість срібла та міді в гранулах становила, відповідно, 2:1. Наприклад, при розрахунку на 0,5–2 та 0,25–1 атомних % (ат.%) від вмісту кальцію у складі БФК срібло буде становити 0,54–2,16 масових % (мас.%), а мідь – 0,16–0,63 мас.% відносно ваги керамічного композиту). Гранули висушували і прожарювали у повітрі при температурі 500–870 °С, що забезпечує як видалення залишків нітратів, так і дифузію іонів срібла та міді в керамічні зерна двофазного нанокompозиту. Саме температура цього останнього прожарювання визначає режим вивільнення срібла та міді з імплантованого матеріалу. При максимальній температурі прожарювання пористих гранул легуючі компоненти вивільнюються рівномірно протягом всього терміну

біотрансформації імплантату. При менших температурах і пористостях збільшується інтенсивність їх вивільнення безпосередньо після імплантації одночасно зі зменшенням цієї інтенсивності через 4–6 тижнів. Отримані гранули легованого сріблом і міддю БФК у кількості 30 мас.%, змішували з гранулами біоситалу (БС) у кількості 70 мас.%, звертаючи увагу на рівномірність змішування.

Більш швидка біорезорбція трикальційфосфату порівняно з гідроксиапатитом у двофазному нанокompозиті забезпечує формування розвиненої поверхні і нанопористості. Це покращує остеокондуктивні властивості матеріалу і гарантує більш швидке проростання нової кісткової тканини всередині імплантату. Одночасно більш виражена біорезорбція гранул біоактивного скла забезпечує формування сполучених між собою макропор необхідних для проростання кровоносних судин у місці імплантації. Забезпечення цих умов визначається вибором розмірів гранул склокерамічної фази, діаметр яких має становити не менше 15 мкм.

Наявність біоактивного скла і кристалічної фази у складі ситалу забезпечує його механічну міцність і помірну рентгенологічну контрастність (присутність рентгенолічно контрастної фракції  $B_2O_3$ ). Її зміни дозволяють достатньо легко аналізувати швидкість процесів біотрансформації керамічного композиту в лабораторних і клінічних умовах. Цинк, що міститься у фосфат-силікатному ситалі, також вносить вклад у антимікробні та біостимулювальні властивості біокompозиту. Його вміст в окремій від міді фазі дозволяє уникнути конкуренції цих елементів і дає змогу організму вибірково вивільняти той елемент, який більше потрібен.

За цією схемою синтезу отримано зразки БКС обраного складу з різними комбінаціями легуючих елементів. Усього було отримано п'ять зразків БКС з різною комбінацією легуючих елементів (табл. 3.2).



**Синтезовані зразки модифікованого біоактивного керамічного  
композиту «Синтекість»**

Зразок (аббревіатура)	Композиція зразка	Номінальна концентрація легуючих елементів (ат. %)	
		Срібло ( $\text{Ag}^+$ )	Мідь ( $\text{Cu}^{2+}$ )
БКС 1	БФК (30%), БС (70%)	0,1	0,05
БКС 2		0,5	0,25
БКС 3		1	0,5
БКС 4		2	1
БКС 5		10	5
БКС		Контроль, нелегований зразок	

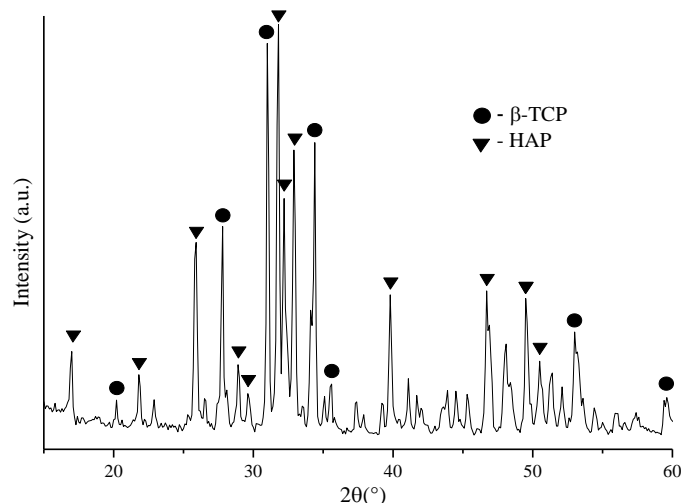
Отже, для наступного вивчення були виготовленні гранули, що склалися зі склокристалічних фаз обраного складу та рівномірно розподілених кристалів гідроксиапатит-трикальційфосфатної кераміки (БФК-БС). Останні отримані шляхом фазового перетворення нестехіометричного гідроксиапатиту та ситалів, легованих іонами срібла і міді, в атомному відношенні 2:1 в кількості від 0,1 до 10 ат.%. З метою легування сріблом та міддю синтезовані гранули БКС обробляли при кип'ятінні відповідною кількістю розчинів нітрату срібла (0,1–10%) та міді (0,05–5%) з наступним висушуванням при температурі 120 °С та термічною обробкою при 600-700 °С. Це призводить до повного розкладання нітратів срібла та міді, видалення оксидів азоту, а також твердофазної дифузії. Внаслідок цього атоми срібла і міді вбудовуються в кристалічну структуру гідроксиапатиту та ситалу, займаючи місця іонів кальцію.

Гранули зразків кераміки, розфасовані по окремих пакетах, були готові до використання після стерилізації в автоклаві за стандартним режимом.

### 3.2. Фізико-хімічні властивості синтезованих зразків біоактивного керамічного композиту

Було проведене всебічне дослідження фізико-хімічних властивостей синтезованих зразків БКС, різного складу та з різними концентраціями легуючих домішок.

Рентгенодифракційний аналіз зразків БКС проводили за допомогою дифрактометру ДРОН-3М з використанням  $\text{CuK}\alpha$  випромінювання при довжині хвилі 1,5418 Å, у діапазоні  $2\theta$  20-50° з кроком 0,1° та часом вимірювання 4 секунди на крок. Було виявлено більш менш рівномірне розподілення таких фаз як ГАП та  $\beta$ -ТКФ у співвідношенні 50/50 (рис. 3.1) у складі біфазних зразків кераміки.



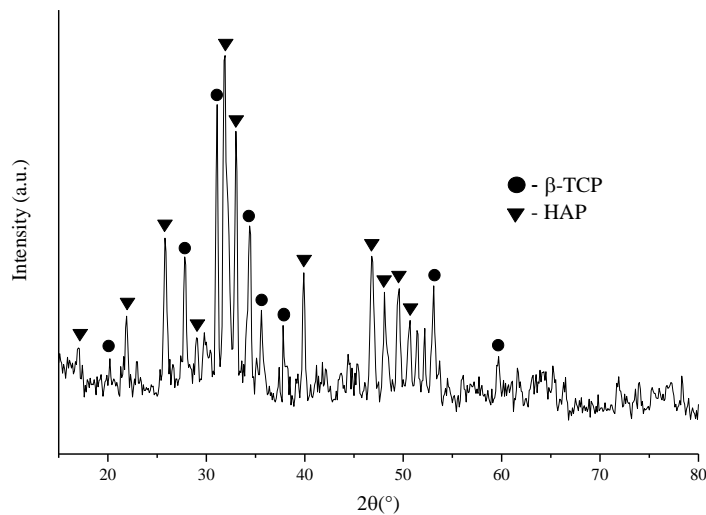
*Рис. 3.1. Дифрактограма зразка біфазної кераміки, отриманого шляхом розкладу нестехіометричного ГАП при 750 °С. Виходячи із співвідношення інтенсивності піків можливо судити про вміст фаз приблизно 1:1.*

Промитий та висушений осад кальцій дефіцитного гідроксиапатиту має структуру дефектного гідроксиапатиту. Проте, після ущільнення під пресом і наступним спіканням при температурі 1000 °С, нестехіометричний гідроксиапатит перетворюється на дві фази – стехіометричний гідроксиапатит кальцію та  $\beta$ -трикальційфосфат у майже рівних

співвідношеннях. Фазове перетворення відбувається рівномірно у всьому об'ємі, що забезпечує нанорозмірність зерен обох фаз [128, 169].

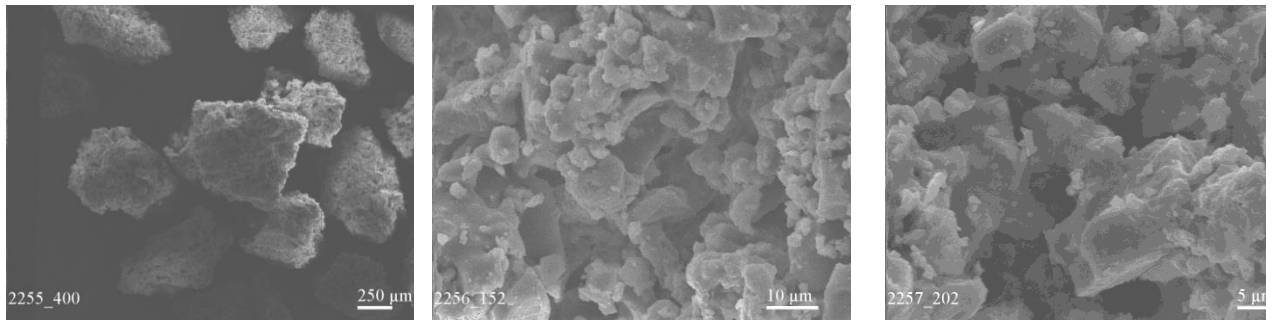
Подібні результати отримані і при аналізі, з тими же параметрами, зразків, що мали у своєму складі фазу біоактивного скла. На фоні рівномірно розподіленої біфазної кальцій-фосфатної кераміки спостерігалось незначне гало, яке свідчить про наявність склоподібної аморфної фази (рис. 3.2).

Для усіх зразків композиту, включаючи зразки із найбільшим вмістом срібла та міді, рентгенодифракційний аналіз не виявив утворення жодних нових чи сторонніх фаз.



*Рис. 3.2. Дифрактограма композиту БФК з біоситалом (30:70), легованого сріблом (1 ат. %), міддю (0.5 ат. %). Незначне гало свідчить про наявність аморфної фази ситалу.*

Растрова електронна мікроскопія зразків БКС підтвердила макро- та мікропористість синтезованих фрактальних гранул. Спостерігається утворення досить шорсткої поверхні гранул (рис. 3.3) розміром від 500 мкм, з загальною пористістю в межах 30–40%. Хаотично розміщені полігональні частинки кераміки неправильної форми об'єднуються в конгломерати з утворенням мікропор досить малих розмірів – від 20 до 10 мкм, без утворення наскрізних ходів.



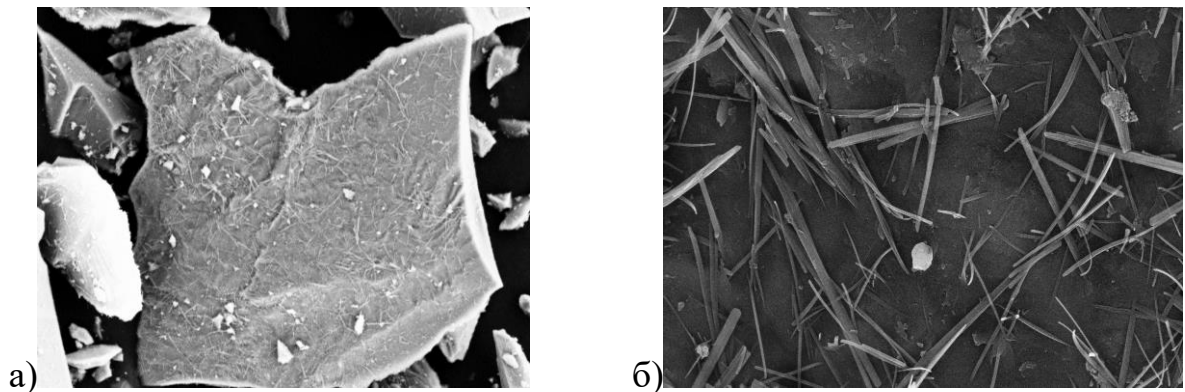
$36. \times 40$

$36. \times 10^3$

$36. \times 2 \times 10^3$

**Рис. 3.3.** СЕМ. Мікропориста структура гранул біоактивного керамічного композиту по завершенню синтезу (технологія накатування гранул ситалу).

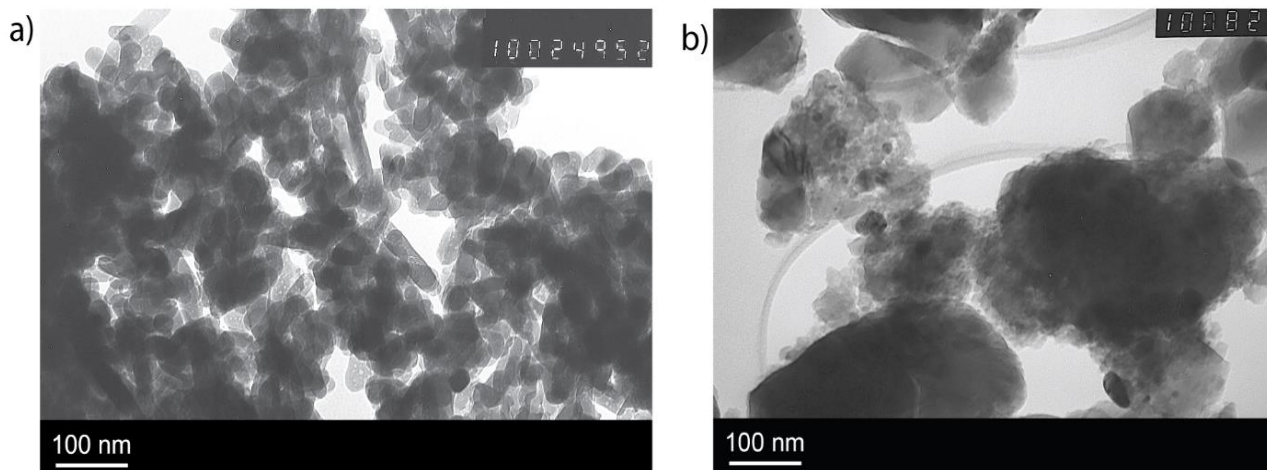
На фоні фрагментів склокерамічної фази значно меншого розміру спорадично спостерігається утворення голкоподібних кристалів гідроксиapatиту (рис. 3.4). Це підтверджується утворенням апатитних піків на фоні склокристалічної фази на рентгенодифрактограмах.



**Рис. 3.4.** СЕМ. Утворення кристалів гідроксиapatиту (з голкоподібною морфологією) на поверхні склокристалічної кераміки.  $36. \times 10^3$  (а),  $\times 10^4$  (б).

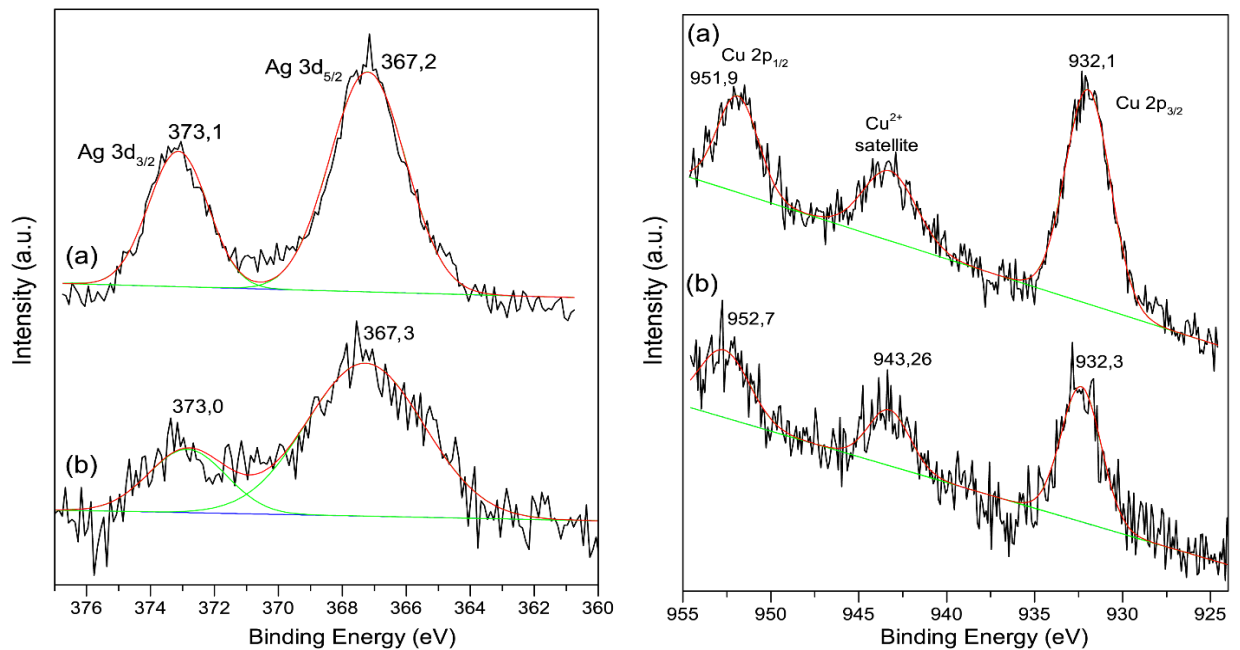
Результати трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) засвідчили нанорозмірність синтезованих гранул матеріалу. Отримані дані (рис. 3.5) вказують, що гранули кераміки мають неомогенну будову до та після

спікання, що є типовим для мультифазних структур. Перед кальцинацією кераміки усі частинки нанорозмірні у межах  $15\text{--}30 \times 40\text{--}150$  нм. Спікання супроводжується рекристалізацією та значним зростанням розмірів кристалів, які залишаються досить неоднорідними: помітна кількість частинок кераміки має розмір менше 100 нм.



*Рис. 3.5.* Зразок біфазної кераміки (БФК) висушений при 100 °С (а) та спечений при 1000 °С протягом 1,5 години (б). Зб.  $\times 10^5$ .

Ступінь окислення срібла та міді на поверхні зразків БКС 3 та БКС 5 аналізували за допомогою рентгенівської фотоелектронної спектроскопії (фотоелектронний спектрометр JSPM-4610). На відміну від більшості металів, енергія зв'язування 3d електронів срібла знижується у ряді  $\text{Ag}^0\text{--g}^+\text{--Ag}^{2+}$  [194]. Пік  $\text{Ag } 3d_{5/2}$  дуже чутливий до валентного стану срібла. У цьому дослідженні енергія зв'язку  $3d_{5/2}$  обох зразків (рис. 3.6 – а, б) лежить у межах  $367,3 \pm 0,1$  eV, що згідно даних J.S. Hammond [206] відповідає одновалентному ступеню окислення срібла ( $\text{Ag}^+$ ).



**Рис. 3.6.** Фотоелектронні Ag 3d спектри (зліва) та Cu 2p спектри (справа) зразків БКС 5 (а) та БКС 3 (б).

Валентність міді може бути визначена за положенням піків у ділянці енергій 2p. Піки з енергіями зв'язку 952 eV і 932 eV відносяться до піків Cu 2p<sub>1/2</sub> та 2p<sub>3/2</sub> відповідно. Пік при 943,2 eV є характеристичним сателітом іонів Cu<sup>2+</sup>, що відсутній для інших валентних станів міді [296]. Виходячи із форми та співвідношення інтенсивностей піку 2p<sub>3/2</sub> та сателіту при 943,2 eV (рис. 3.6), можна зробити заключення, що мідь у зразках присутня у вигляді іонів Cu<sup>2+</sup>.

Процес легування БФК контролювали методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою на предмет включення сторонніх домішок і радіоактивних елементів (Spectroblame Modula ICP «Spectro»). Одночасно з цим визначали відхилення фактичної концентрації легуючих компонентів від номінальної кількості.

Результати дослідження підтвердили накопичення в незначних кількостях додаткових елементів при синтезі усіх зразків БКС, таких як іони натрію, калію, заліза та магнію. При цьому концентрації легуючих домішок незначно відрізнялися від номінальної кількості та не було помічено присутності шкідливих елементів.

Результати аналізу на прикладі зразка БКС 3 представленні у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

**Результати аналізу атомно-емісійної спектрометрії з індуктивно-зв'язаною плазмою на прикладі зразка БКС 3**

Елемент	Ag	Cu	Ca	P	Na	K	Fe	Mg
Концентрація (мас.%)	0,946 ( $\approx 0,89$ ат.%)	0,319 ( $\approx 0,5$ ат.%)	35,615	23,938	0,082	0,008	0,021	0,006

Таким чином, відмічена певна втрата фактичної концентрації іонів срібла до 0,89 ат.% порівняно із номінальною кількістю для цього зразка – 1 ат.% під час синтезу. Концентрація іонів міді практично не має відхилень.

**Висновок.** Дифракційним і спектроскопічним методами дослідження показано, що синтезовані зразки БКС мають рівномірне розподілення фаз ГАП та  $\beta$ -ТКФ (приблизно 50:50) без утворення сторонніх фаз, а енергія зв'язку для всіх елементів у досліджуваних зразках дозволяє визначити присутність саме іонних форм срібла ( $\text{Ag}^+$ ) та міді ( $\text{Cu}^{2+}$ ). Атомно-емісійна спектрометрія зразків БКС показала відсутність шкідливих елементів, з незначним відхиленням легуючих домішок від номінальної кількості. ТЕМ досліджуваних зразків підтвердила неоднорідну морфологію частинок, що є типовим для багатофазних композитів зі збереженням нанорозмірності кристалів у межах 100 нм до та після спікання. Поверхнева мікроструктура гранул БКС достатньо шорстка для фіксації клітинних елементів.

### 3.3. Аналіз протимікробних властивостей модифікованої біокераміки

Мікробіологічними дослідженнями було встановлено, що виготовлені зразки БКС мали різні антибактеріальні властивості залежно від виду тест-штаму мікроорганізмів. Отримані результати представлені у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

#### Антибактеріальна активність зразків модифікованого біокерамічного композиту ( $M \pm m$ )

Зразок БКС	Зона затримки росту (в мм) тест-штаму мікроорганізмів			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
БКС 1	6,0	10,2±0,32	6,0	6,0
БКС 2	14,15±0,34	16,7±0,26	13,3±0,46	16,4±0,35
БКС 3	17,6±0,16	17,9±0,18	15,15±0,27	18,1±0,72
БКС 4	19,8±0,26	18,9±0,82	17,2±0,64	18,4±0,6
БКС 5	22,6±0,4	19,2±0,72	17,6±0,95	23,75±0,28
p <sub>1-2</sub>	–	p<0,01	–	–
p <sub>2-3</sub>	p≤0,01	p<0,05	p<0,01	p≤0,05
p <sub>3-4</sub>	p<0,01	p>0,05	p≤0,05	p>0,05
p <sub>4-5</sub>	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p<0,01

**Примітка:** p<sub>1-2</sub> – вірогідність відмінностей між БКС 1 та БКС 2; p<sub>2-3</sub> – вірогідність відмінностей між БКС 2 та БКС 3; p<sub>3-4</sub> – вірогідність відмінностей між БКС 3 та БКС 4; p<sub>4-5</sub> – вірогідність відмінностей між БКС 4 та БКС 5.



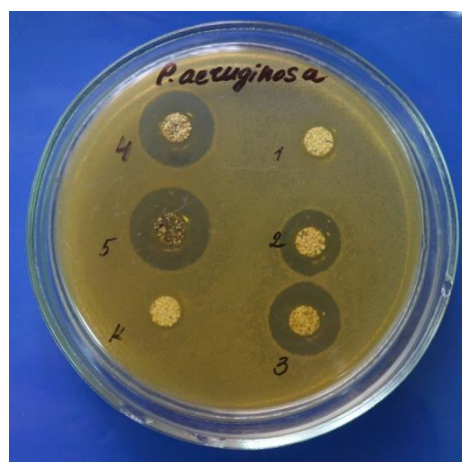
Так, найбільш чутливим мікроорганізмом до дії зразків БКС був тест-штам *E. coli*, зона затримки росту якого виявлялась вже у найменшій атомній концентрації срібла та міді (рис. 3.7, а) і складала  $10,2 \pm 0,32$  мм. Не виявлено достовірної ( $p > 0,05$ ) відмінності у затримці росту *E. coli* між зразками БКС № 3, 4, 5.

Тест-штам синьогнійної палички (*Ps. aeruginosa*) при мінімальній концентрації легуючих компонентів був нечутливий до матеріалу. Цей штам продемонстрував пряму залежність затримки росту від збільшення атомної концентрації іонів срібла та міді у зразках БКС (рис. 3.7, б), з високою статистичною значущістю ( $p < 0,01$ ).

Дріжджоподібні гриби роду *Candida*, тест-штам *C. albicans*, були чутливі до БКС починаючи з концентрації 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді, демонструючи помірно виражений фунгіцидний ефект (рис. 3.7, в). У найбільшій концентрації затримка росту була найзначніша порівняно з іншими тест-штамами мікроорганізмів і складала  $23,75 \pm 0,28$  мм. Пригнічення росту *C. albicans* істотно не відрізнялось ( $p > 0,05$ ) у зразках найзначніша БКС № 3 і 4.



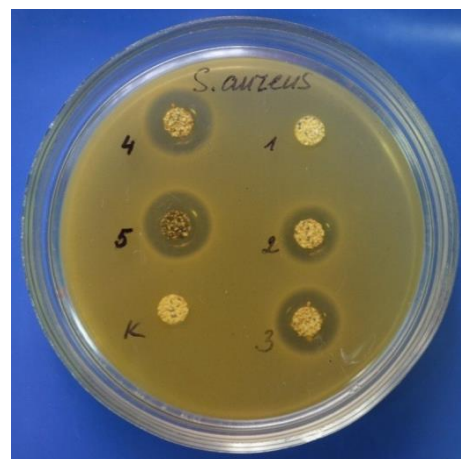
(a)



(б)



(в)



(г)

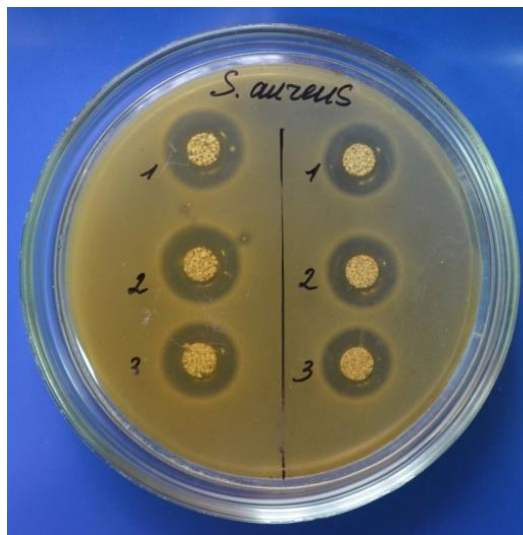
**Рис. 3.7.** Чутливість штамів *E. coli* (а), *Ps. aeruginosa* (б), *S. aureus* (в), *C. albicans* (г) до зразків БКС 1, 2, 3, 4, 5 з відповідною концентрацією срібла та міді, К – контроль, без додаткового легування.

Найменш чутливим тестовим мікроорганізмом виявився референтний штам *S. aureus* (рис. 3.7, г). Затримка росту цього мікроорганізму була найменша, порівняно з іншими тестовими штамами. При максимальній концентрації 10 ат.% срібла та 5 ат.% міді (БКС 5), керамічний композит демонстрував лише помірно виражений антибактеріальний ефект, який

суттєво не відрізнявся ( $p>0,05$ ) від подібного при меншій концентрації 2 ат.% срібла та 1 ат.% міді (зразок БКС 4).

У всіх випадках не було помічено жодної зони затримки росту тестових штамів мікроорганізмів у контрольному зразку БКС, яка відповідала діаметру комірки у 6 мм (рис. 3.7).

Також встановлено, що зі зменшенням величини гранул біокерамічного матеріалу збільшується його антибактеріальна дія (таблиця 3.2). Так, зразок БКС з однаковою концентрацією іонів срібла та міді (БКС 3) дрібної фракції (при величині гранул у 300 мкм) був ефективніший за зразок з великою фракцією (величина гранул 1–2 мм) (рис. 3.8).



**Рис. 3.8.** Чутливість *S. aureus* до зразка БКС 3. Лівий стовпчик відображає розмір гранул 100–300 мкм, а правий – 1–2 мм. Цифри 1, 2, 3 вказують на повтори дослідження.

Затримка росту тест-штаму *S. aureus* достовірно відрізнялась ( $p<0,05$ ) при дрібних гранулах, порівняно з більшими, приблизно у 1,2 рази. Вона складала відповідно  $17,22\pm 0,32$  мм та  $15,38\pm 0,2$  мм, і відповідала такій з більшою концентрацією – 2 ат.% срібла та 1 ат.% міді та величиною гранул 1–2 мм (таблиця 3.5). Це явище можна пояснити збільшенням поверхневої площі матеріалу, що контактує з оточуючим середовищем.

**Антибактеріальна активність зразків БКС з однаковою концентрацією іонів та різною величиною гранул ( $M \pm m$ )**

Тест-штам мікроорганізму	Зона затримки росту (в мм) до БКС з концентрацією 1 ат.% Ag та 0,5 ат.% Cu	
	Дрібна фракція гранул	Велика фракція гранул
<i>S. aureus</i>	17,22±0,32	15,38±0,20
	p<0,05	

Отримані дані свідчать, що модифікація біоактивного керамічного композиту БКС шляхом легування іонами срібла та міді надає йому антибактеріальних і фунгіцидних властивостей для всіх тестових мікроорганізмів, починаючи з мінімальної атомної концентрації у 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді.

Отримані результати підтверджують висновки подібних вітчизняних та закордонних досліджень [11, 40, 76, 94, 126, 131, 164]: до іонів срібла в комбінації з міддю більш чутливі грамнегативні бактерії та дріжджоподібні гриби роду *Candida*, порівняно з грампозитивними бактеріями. Хоча, у представленому дослідженні дана комбінація виявляла помірно виражений антибактеріальний ефект по відношенню, навіть, до референтного штаму золотистого стафілококу. Одночасно з цим відмічався і певний синергізм у антибактеріальній активності іонів срібла та міді.

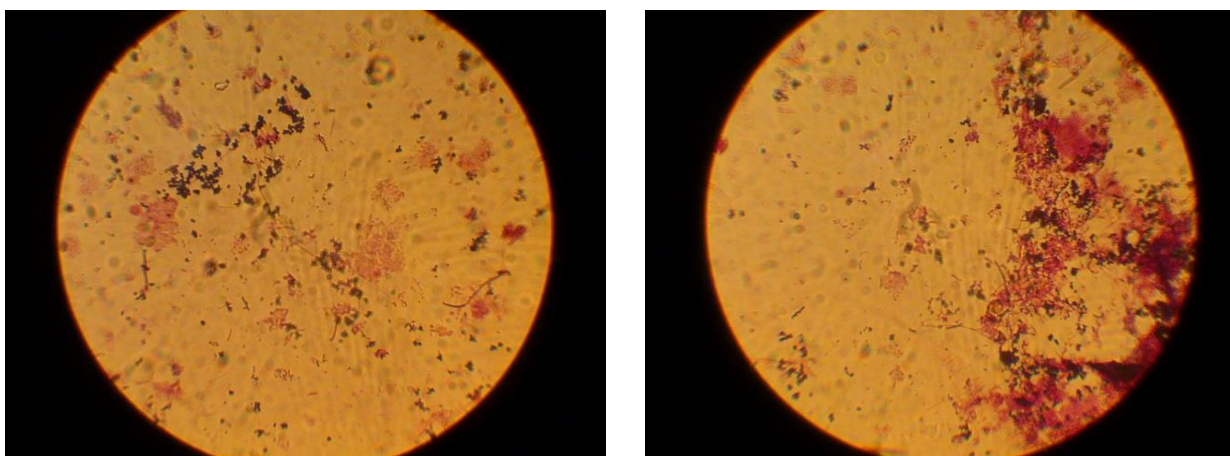
Встановлено, що найбільша концентрація іонів срібла та міді у зразках БКС 5 не демонструє порівняно більшого пригнічення росту мікроорганізмів, навіть з концентрацією в 10 разів меншою. Зокрема, у середніх значеннях зона затримки росту досліджуваних тестових-штамів мікроорганізмів була більше на 27% при максимальному насиченні іонами БКС порівняно з концентрацією 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді. При порівнянні зразків з вищими концентраціями 1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді (зразок БКС 3) і 2 ат.%

срібла та 1 ат.% міді (зразок БКС 4) затримка росту була лише на 17% та 9% більшою відповідно. Це доводить недоцільність подальшого клінічного використання зразка БКС 5, не в останню чергу, через можливий гальмівний ефект регенерації клітин кісткової тканини [78, 94].

Можна припустити, що в оточуючому середовищі, у нашому випадку поживному середовищі, створюється дещо інша концентрація іонів срібла та міді, ніж в зразках біокерамічного композиту. Причому, ця концентрація збільшується при більшому іонному насиченні остеопластичного матеріалу.

Визначено, що модифікований вітчизняний синтетичний остеопластичний матеріал «Синтекість», легований іонами срібла і міді з різною концентрацією, демонструє антибактеріальні та фунгіцидні властивості. Антибактеріальна дія залежить від концентрації цих іонів, виду мікроорганізму та структури матеріалу.

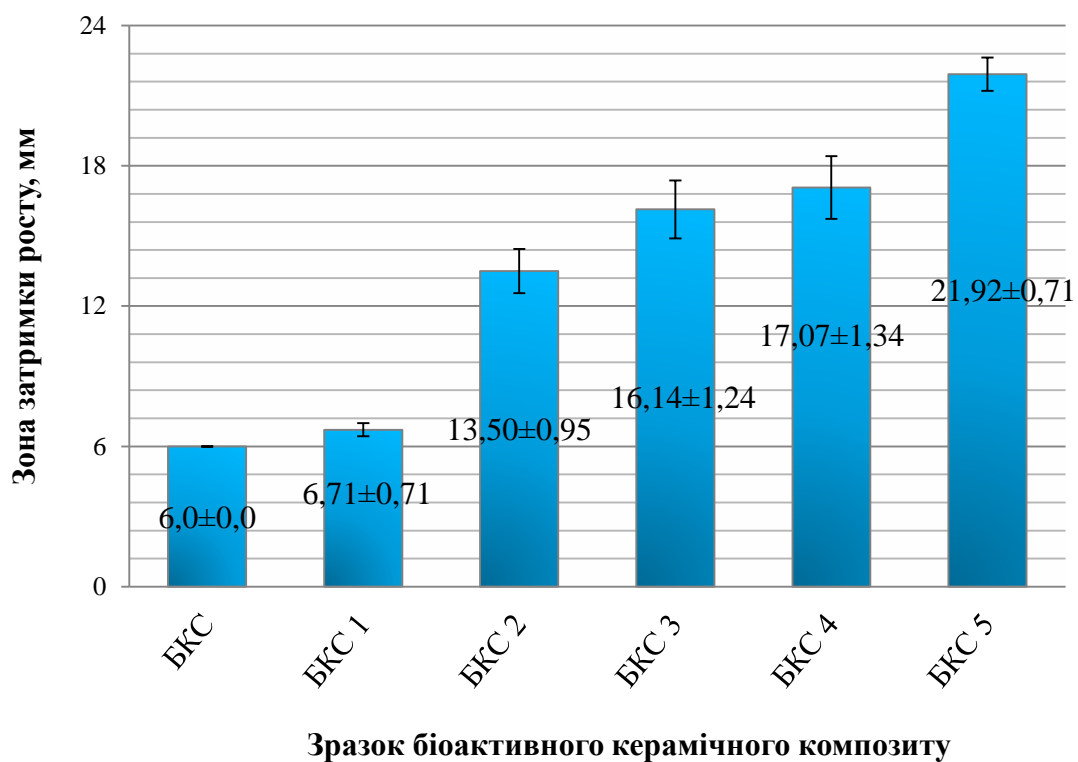
У ході дослідження встановлено, що морфологічний склад виділеної мікрофлори був однаковий у всіх обстежених хворих. Так, при бактеріоскопії суспензії змішаної флори виявлено досить типову умовно-патогенну мікрофлору пародонтальних кишень. Мікроорганізми ідентифікували за різними тинкторіальними та морфологічними ознаками: стрептококи, стафілококи, диплококи, грампозитивні палички (актиноміцети), спірили тощо (рис. 3.9).



*Рис. 3.9. У суспензії змішаної флори виявляється досить типова змішана умовно-патогенна мікрофлора пародонтальних кишень.*

Мікроорганізми ідентифікуються за різними тинкторіальними та морфологічними ознаками: стрептококи, стафілококи, диплококи, грампозитивні палички (актиноміцети), спірили тощо. Мікрофотореєстрація. Забарвлення за Грамом, зб.  $\times 20$ .

У результаті визначення чутливості виділеної змішаної мікрофлори встановлено, що зразки БКС мали різні антибактеріальні властивості залежно від концентрації іонів срібла та міді (рис. 3.10).



**Рис. 3.10.** Залежність чутливості змішаної мікрофлори від зразка БКС з відповідною концентрацією легуючих добавок.

Найбільшу зону затримки росту змішаної мікрофлори у середньому  $21,92\pm 0,71$  мм продемонстрував 5-й зразок БКС. В зразках з меншими концентраціями іонів срібла та міді (зразки БКС 2, 3, 4) чутливість мікроорганізмів суттєво не відрізнялась ( $p > 0,05$ ), порівняно зі зразком більшої концентрації цих іонів (таблиця 3.6). Вона відповідала незначній та помірно вираженій антибактеріальній дії. Причому, на деяких чашках Петрі

ця зона була навіть менше, ніж у зразках БКС з концентрацією 1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді (рис. 3.11), і у середньому складала  $17,07 \pm 1,34$  мм та  $16,14 \pm 1,24$  мм відповідно. А зразок з найбільшою концентрацією іонів срібла та міді значуще відрізнявся лише з вірогідністю у 95 % ( $p < 0,05$ ) від 4-го зразка БКС (таблиця 3.6).

Біокераміка без легуючих додатків у жодному випадку не затримувала росту культур мікроорганізмів, що досліджувалися, та відповідала діаметру комірки у 6 мм.

Таблиця 3.6

**Антибактеріальна активність  
зразків остеопластичних матеріалів ( $M \pm m$ )**

Остеопластичний матеріал		Зона затримки росту змішаної мікрофлори (мм)	
Біокерамічний композит «Синтекість»	1 зразок (БКС)	$6,00 \pm 0,00$	–
	2 зразок (БКС 2)	$13,50 \pm 0,95$	$p_{2-3} > 0,05$
	3 зразок (БКС 3)	$16,14 \pm 1,24$	$p_{3-4} > 0,05$
	4 зразок (БКС 4)	$17,07 \pm 1,34$	$p_{4-5} < 0,05$
	5 зразок (БКС 5)	$21,92 \pm 0,71$	–
	6 зразок (БКС 1)	$6,71 \pm 0,28^*$	$p_{2-6} < 0,01$
«Біопласт-Дент»	БП – Л	$32,57 \pm 2,35$	$p^{**} < 0,01$
	БП – МХ	$8,14 \pm 0,26$	$p^{***} < 0,05$

*Примітка:*  $p_{2-3}$  – вірогідність відмінностей між 2 та 3 зразком;  $p_{3-4}$  – вірогідність відмінностей між 3 та 4 зразком;  $p_{4-5}$  – вірогідність відмінностей між 4 та 5 зразком;  $p_{2-6}$  – вірогідність відмінностей між 2 та 6 зразком;  $p^{**}$  – вірогідність відмінностей між 5 зразком БКС та БП-Л;  $p^{***}$  – вірогідність відмінностей між 6 зразком БКС та БП-МХ; \* – затримка росту спостерігалася лише в кров'яному МПА.

Дані отримані при дослідженні чутливості змішаної мікрофлори до зразка БКС 1 показали, що зони затримки росту були виявлені лише в кров'яному МПА (рис. 3.11) на відміну від глюкозного МПА або м'ясо-пептонного бульйону, і у сумі складала близько  $6,71 \pm 0,28$  мм та були мінімальними.

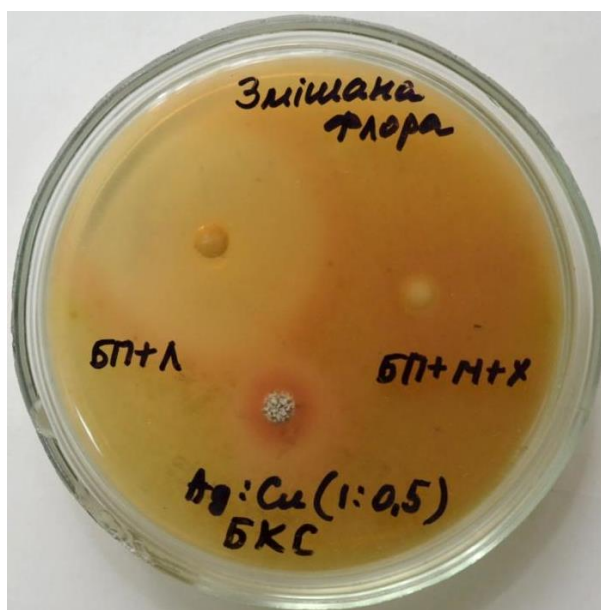


*Рис. 3.11. Метод колодязів. Кров'яний МПА. Визначення чутливості змішаної мікрофлори пародонтальних кишень до зразків БКС: (1) – БКС (контроль); (2) – БКС 2; (3) – БКС 3; (4) – БКС 4; (5) – БКС 5; (6) – БКС 1.*

При співставленні антибактеріальних властивостей зразків матеріалів груп порівняння, найбільш активним виявився «Біопласт-Дент» з лінкоміцином (БП-Л). Зона затримки росту змішаної мікрофлори була максимальна, і складала  $32,57 \pm 2,35$  мм, що відповідало вираженій антибактеріальній дії. Біокомпозит «Синтекість» (на прикладі 3-го зразка БКС) поступався вказаній антибактеріальній активності приблизно у 2 рази (рис. 3.12). Найменш активним був зразок «Біопласт-Дент», що в складі має комбінацію хлоргексидину з метронідазолом (БП-МХ). Чутливість клінічно виділеної змішаної флори до цього зразка була мінімальна, а антибактеріальна дія визначалася як незначна, хоча значуще відрізнялася

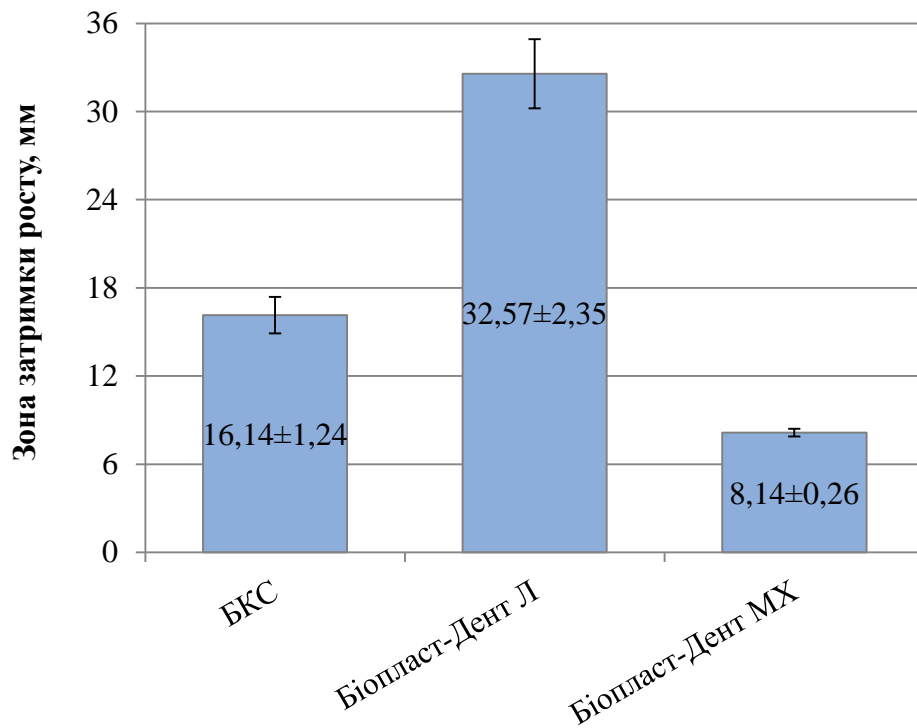


( $p < 0,05$ ) від 6-го зразка БКС з найменшою концентрацією 0,1 ат.% срібла та 0,05 ат.% міді (таблиця 3.6).



*Рис. 3.12. Метод колодязів. Кров'яний МПА. Визначення чутливості змішаної мікрофлори пародонтальних кишень до зразків матеріалів груп порівняння.*

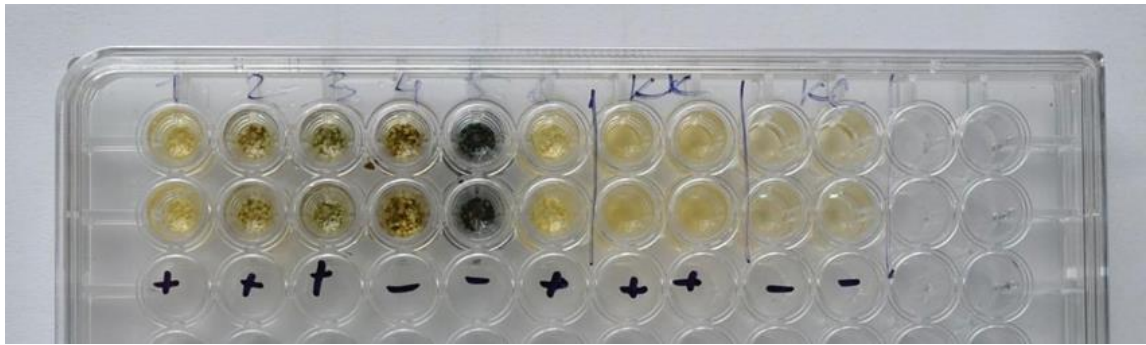
Отже, з матеріалів контрольної групи найбільш активним відносно змішаної мікрофлори виявився «Біопласт-Дент» насичений лінкоміцином. «Біопласт-Дент» з хлоргексидином і метронідазолом був майже неактивний відносно вказаної мікрофлори. Це можна пояснити низькою концентрацією антибактеріальних агентів, резистентністю виділених мікроорганізмів до даних препаратів чи спектром їх протимікробної активності. Модифікований біокомпозит «Синтекість», навіть легований найбільшою концентрацією іонів срібла та міді, істотно поступався ( $p < 0,01$ ) у своїй антибактеріальній дії БП-Л (рис. 3.13).



*Рис. 3.13. Залежність чутливості змішаної мікрофлори від зразка матеріалу груп порівняння.*

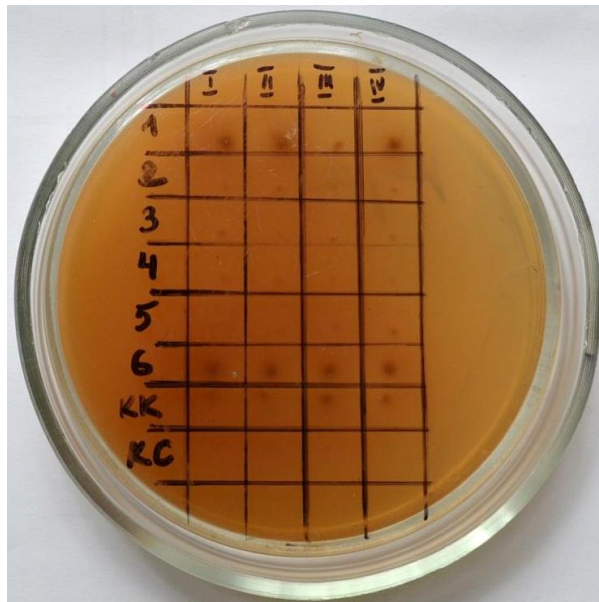
Дослідження бактеріостатичних і бактерицидних ефектів легованих зразків БКС іонами срібла та міді мікрометодом, також показало концентраційно-залежний зв'язок.

Так, у комірках полістиролового планшету помічених номерами 1, 2, 3, 6 зі зразками БКС відповідної концентрації іонів визначено помутніння середовища, що відповідало контролю культури (КК). Визначена тенденція до зменшення помутніння у зразка № 3 (у 1-го зразка спостерігалось максимальне помутніння). Відповідно у комірках з індикацією зразків БКС №: 4, 5 та контроль середовища (КС) помутніння не виникало (рис. 3.14).



*Рис. 3.14. Мікрометод послідовних розведень. Визначення бактерицидних та бактеріостатичних властивостей зразків БКС. 1, 2, 3, 4, 5, 6 – зразки БКС. КК – контроль культури, КС – контроль середовища. «+» та «-» індикація наявності або відсутності помутніння середовища.*

Після висівання мікроорганізмів з комірок 1–6, КК, КС на кров'яний агар, з наступним культивуванням у термостаті протягом однієї доби, відбулось проростання культур мікроорганізмів в зонах, що відповідає зразкам № 1, 6 та контролю культури (рис. 3.15).



*Рис. 3.15. Щільне поживне середовище. Вивчення бактерицидних та бактеріостатичних властивостей зразків БКС. 1, 2, 3, 4, 5, 6 – зразки БКС. КК – контроль культури, КС – контроль середовища. Римськими цифрами позначені повторення дослідження.*

Таким чином, модифікований БКС з концентрацією іонів 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді (зразок БКС 2) і більше проявляв бактеріостатичний ефект по відношенню до змішаної пародонтальної мікрофлори. А біокераміка, насичена іонами у концентрації починаючи з 2 ат.% срібла та 1 ат.% міді, що відповідає зразкам БКС 4 та 5, проявила ще і бактерицидну дію. БКС нелегований та з мінімальною концентрацією іонів (зразок БКС 1) не демонстрував жодного з ефектів.

#### **3.4. Оцінка цитотоксичності зразків керамічного композиту у культурі клітин людини**

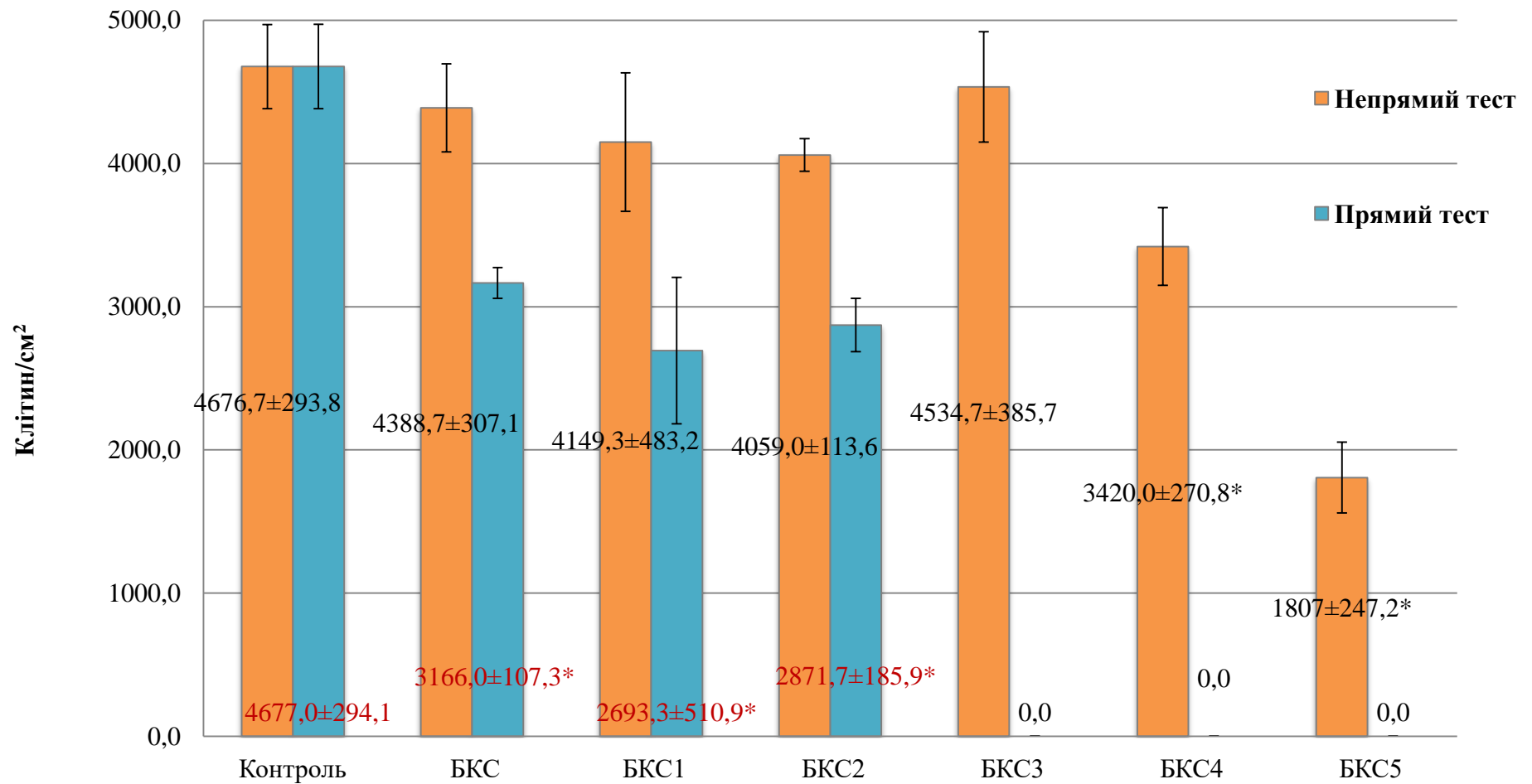
Біосумісність зразків біокераміки *in vitro* оцінювали згідно критеріїв ISO 10993 за рахунок вивчення прямої та непрямой цитотоксичності синтезованих гранул матеріалу в культурі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (ММСК) жирової тканини людини.

Проведенні тести показали, що в контрольній групі 1 (за відсутності гранул біокераміки) на третю добу культивування кількість клітин в культурі збільшувалась майже в 1,5 рази.

Керамічний композит без іонів срібла та міді (контрольна група 2) майже не володів цитотоксичністю, та істотно не пригнічував ні адгезію, ні проліферацію ММСК-ЖТ. Дифузія його компонентів в ростове середовище не впливала на зміну рН та створення інших неадекватних умов інкубації. Було виявлено, що ні один зі зразків БКС не змінював фізіологічного значення рН ростового середовища протягом доби інкубації. Напроти, його модифікації, залежно від концентрації іонів срібла та міді, проявляли різні цитотоксичні властивості за непрямого та прямого методу визначення.

За непрямого тесту (рис. 3.16) визначення цитотоксичності всі досліджувані зразки біоактивного керамічного композиту не впливали негативно на виживання та проліферацію клітин. Екстракти зразків гранул біокераміки, легованих іонами срібла та міді в межах 2 ат.% та 1 ат.%

(БКС 4) не призводили до загибелі клітин на 3-тю добу культивування. Хоча, за наявності екстракту з 7-ої групи (з найбільшою концентрацією іонів срібла та міді) спостерігалась тенденція до зменшення кількості клітин. Цим ця група істотно ( $p < 0,05$ ) відрізнялась від інших груп. У п'ятій групі (БКС, легований 1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді) проліферація ММСК-ЖТ клітин була максимальною та практично не відрізнялася від контрольної групи 1.

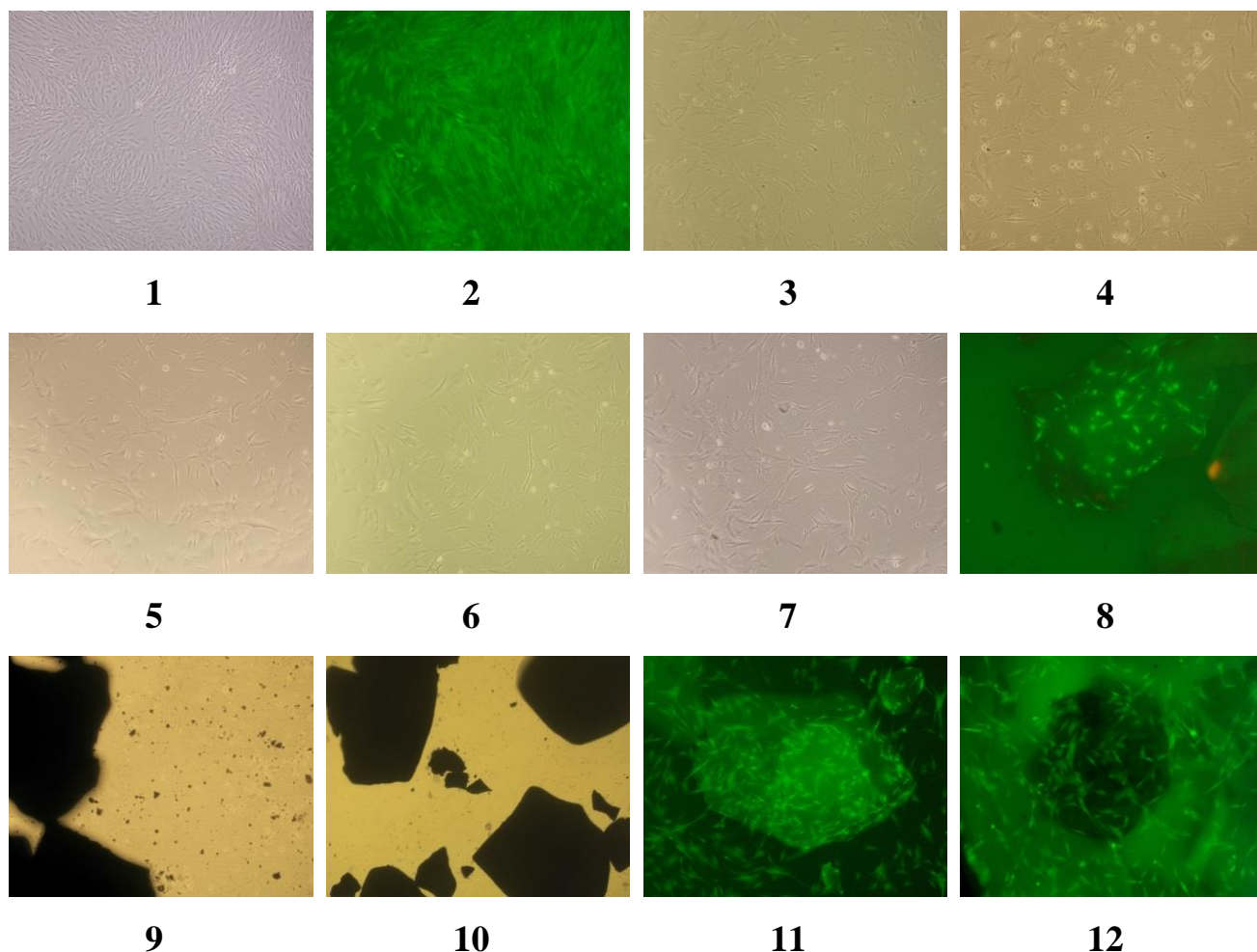


*Рис. 3.16. Діаграма результатів визначення проліферативної активності ММСК-ЖТ людини при оцінці непрямій та прямої цитотоксичності зразків БКС, 3-тя доба. \* – вірогідність відмінностей  $p < 0,05$  порівняно з контролем.*

При прямому тесті (рис. 3.16) цитотоксична дія модифікованої кераміки при її безпосередньому контакті з клітинами зростала, звужуючи цитосумісний діапазон концентрації іонів срібла та міді. В межах концентрації іонів 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді керамічні гранули не перешкоджали життєдіяльності клітин у культурах, проте, і не стимулювали їхню проліферацію (група 4). Хоча, проліферація клітин і знижувалась за наявності біокераміки, порівняно з контрольною групою 1, статистично істотних змін кількості клітин у комірках зі зразками групи 3 та 4 на 3-тю добу не спостерігалось ( $p > 0,05$ ), так само як за присутності зразка БКС без іонів срібла та міді (група 2). Слід також відзначити і механічну втрату клітин з моношару (злущування), зумовлену перекачуванням гранул БКС у комірках з клітинами при транспортуванні плашок, що не пов'язано з цитотоксичністю зразків, зокрема в групі 2. Проте, в групах 6 та 7 в ці ж терміни спостереження визначалась цілковита загибель клітин, що демонструє виражену пряму цитотоксичність зразків БКС з цих груп.

Отриманні дані можуть бути співставленні з іншими подібними дослідженнями [95, 140, 218]. Дослідження підтверджують факти відсутності цитотоксичних впливів іонів срібла та міді в складі кераміки на клітини людського організму за збереження антибактеріальної дії, проте, лише за незначної концентрації цих легуючих агентів. Встановлено, що за однакових концентрацій, кераміка з комбінацією іонів срібла та міді проявляє більш виражену цитотоксичну дію порівняно з керамікою в складі котрої присутні лише іони срібла або міді. Між тим, саме за рахунок комбінації іонів срібла та міді посилюються їх антибактеріальні властивості [93, 99] та створюються передумови для osteo- та angiogenic активності.

Оптимальною в синтезованій запропонованим методом біокераміці виявилася концентрація іонів срібла та міді в межах 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді (зразок БКС 2). Оскільки, дана модифікація біокераміки не перешкоджає адгезії та проліферації ММСК-ЖТ людини, вона може розглядатися як клітинний носій для імплантації у кісткову тканину (рис. 3.17).



*Рис. 3.17. Мікрофотознімки культур ММСК-ЖТ людини 3-го пасажу – оцінка цитотоксичності зразків БКС за непрямим (екстракти) і прямим методами (3-тя доба інкубації; зб.  $\times 100$ ; флуоресцентна мікроскопія – вітальне забарвлення флуоресцеїном діацетатом): 1 – ММСК-ЖТ, моношар, нативний препарат – фазово-контрастна мікроскопія; 2 – ММСК-ЖТ, моношар; 3 – ММСК-ЖТ з 20% екстрактом БКС, нативний препарат – фазово-контрастна мікроскопія; 4 – ММСК-ЖТ з 20% екстрактом БКС 4, нативний препарат – фазово-контрастна мікроскопія; 5 – ММСК-ЖТ з 20% екстрактом БКС 3, нативний препарат – фазово-контрастна мікроскопія; 6 – ММСК-ЖТ з 20% екстрактом БКС 1, нативний препарат – фазово-контрастна мікроскопія; 7 – ММСК-ЖТ з 20% екстрактом БКС 2, нативний препарат – фазово-контрастна мікроскопія; 8 – ММСК-ЖТ з гранулами БКС; 9 – ММСК-ЖТ з гранулами БКС 4, нативний препарат; 10 – ММСК-ЖТ з гранулами БКС 5, нативний препарат; 11 – ММСК-ЖТ з гранулами БКС 1; 12 – ММСК-ЖТ з гранулами БКС 2.*



**Висновок.** Отримані дані показали, що насичення біокераміки іонами срібла та міді надає їй антибактеріальних властивостей різного ступеню вираженості стосовно змішаної мікрофлори пародонтальних кишень. Антибактеріальна дія залежить від концентрації легуєчих добавок. Ці антибактеріальні властивості варіюють в доволі широких межах. Так, легування різними концентраціями іонів срібла та міді, дозволяє БКС створювати в поживному середовищі такі концентрації біоактивних іонів металів, що матеріал виявляє як бактеріостатичний, так і бактерицидний ефекти. Проведеними попередніми дослідженнями показано, що вони забезпечують виражений антибактеріальний вплив відносно груп мікроорганізмів за різним таксономічним положенням, а також щодо грибів роду *Candida*. Показано, що виділена мікрофлора була більш чутлива до бактеріостатичного антибіотика – лінкоміцина. При цьому слід зауважити, що тривалість дії антибіотика у складі остеопластичних матеріалів обмежена – до 14 діб [69]. У разі ж заміщення іонів кальцію на іони срібла та міді у структурі того ж гідроксиапатиту, виділення останніх може бути більш пролонгованим у зв'язку з тривалою біотрансформацією та резорбцією матеріалу.

Результати проведених досліджень надають певні підстави щодо рекомендацій до клінічного застосування вітчизняного біокерамічного композиту, легованого комбінацією іонів срібла та міді в межах відповідно 0,5–1 і 0,25–0,5 ат.%. Така модифікація забезпечує не тільки остеокондуктивні, ангіогенні та антибактеріальні властивості, а і можливість створення певної остеоіндуктивної дії [164]. Обрані зразки БКС можуть виступати як потенційний носій культивованих ММСК людини з метою регенеративної та реконструктивно-відновної хірургії.

Результати цього розділу були висвітлені у наступних наукових публікаціях автора:

1. Борисенко А. В. Антимікробні властивості біоактивного керамічного композиту «Синтекість», збагаченого іонами срібла та міді / А. В. Борисенко, О. С. Лисенко // Современная стоматология. – 2013. – № 3. – С. 30-35.

2. Борисенко А. В. Антибактеріальна дія модифікованого біоактивного керамічного композиту «Синтекість» на змішану мікрофлору пародонтальних кишень / А. В. Борисенко, О. С. Лисенко // Современная стоматология. – 2013. – № 5. – С. 34-39.

3. Оцінка цитотоксичності біокераміки, легованої іонами срібла й міді, у культурі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини людини / О. С. Лисенко, А. В. Борисенко, Д. О. Зубов, Р. Г. Васильєв // Современная стоматология. – 2014. – № 4 (73). – С. 127-132.

4. Лисенко О. С. Антимікробні властивості вітчизняного модифікованого біоактивного керамічного нанокompозиту / О. С. Лисенко, О. В. Дубок // Український науково-медичний молодіжний журнал : «Youth NanoBiotech – 2013. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю. – 2013. – Спец. вип. № 3 (72). – С. 24-25.

5. Лисенко О. С. Антибактеріальна дія модифікованої наноструктурованої біокераміки на змішану мікрофлору пародонтальних кишень / О. С. Лисенко // Український науково-медичний молодіжний журнал : «Youth NanoBiotech – 2014. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю. – 2014. – Спец. вип. № 3 (80). – С. 60-61.

6. The biological properties of the nanostructured bioceramics with silver and copper ions *in vitro* estimation [Електронний ресурс] / О. S. Lysenko, A. V. Borysenko, O. V. Dubok // The materials of E-MRS 2014 Fall meeting : Symposium U : Bioinspired and biointegrated materials as frontiers nanomaterials IV. – Warsaw (Poland), 2014. –P. 377-378. – Режим доступу : <http://www.emrs-strasbourg.com>.

## РОЗДІЛ 4

### РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ НА ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИНАХ

#### 4.1. Динаміка змін біохімічних показників при загоєнні експериментальних дефектів кістки

В таблиці 4.1 представлено результати визначення активності фосфатаз у ділянці кісткового дефекту нижньощелепної кістки щурів. З цих даних видно, що активність лужної фосфатази (ЛФ) в кістковій тканині значно перевищує активність кислої (КФ). При відтворенні кісткового дефекту через 10 днів активність ЛФ достовірно зростає і проявляє тенденцію до зростання активності КФ. На 30-й день досліду активність фосфатаз знижується, причому КФ – достовірно значимо.

Так, в гомогенатах кісткової тканини інтактної групи щурів активність ЛФ складала  $25,4 \pm 2,6$  мккат/кг, а КФ –  $1,97 \pm 0,24$  мккат/кг, що було визначено за фізіологічну норму. Відтворення кісткового дефекту стимулює підвищення активності ЛФ майже у 2 рази до  $42,4 \pm 3,2$  мккат/кг на 10 день, з практичною нормалізацією цього показника через 30 днів. При використанні остеопластичних матеріалів у першій групі активність ЛФ зростає у 2–3 рази на 10 день, з суттєвим зниженням на 30 день до  $44,8 \pm 4,4$  мккат/кг ( $p < 0,01$ ) у третій групі. При цьому, у групах щурів де було застосовано запропоновані остеотропні композиції активність ЛФ залишалась високою, і складала  $75,1 \pm 9,8$  мккат/кг (у четвертій групі) та  $60,3 \pm 7,2$  мккат/кг (у п'ятій групі), демонструючи певну перевагу біокераміки.

Активність КФ також проявляє тенденцію до збільшення за відтворення дефекту кістки нижньої щелепи, проте лише на 10 день експерименту. Визначено суттєве зниження активності цієї фосфатази в усіх групах на 30 день та практична її нормалізація у разі застосування легованої біокераміки, що може свідчити про фізіологічну активність остеокластів.

Таблиця 4.1

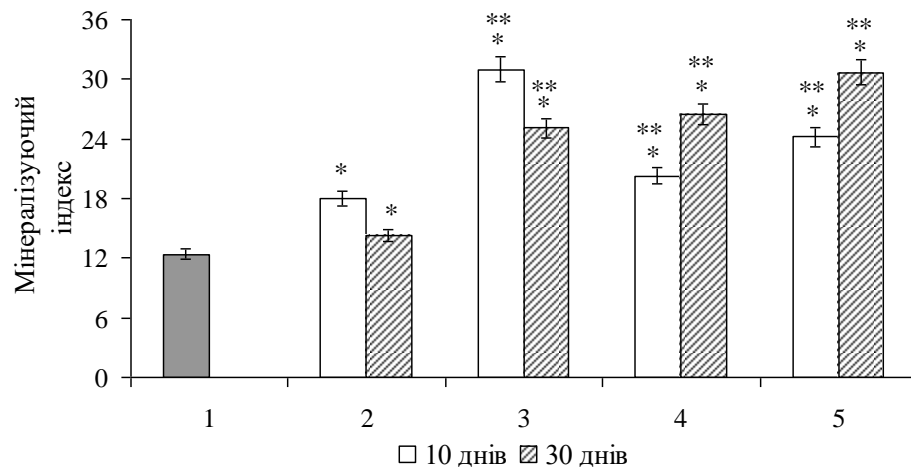
Активність фосфатаз в гомогенатах кісткової тканини ( $M \pm m$ )

№№ п/п	Групи	Термін, дні	ЛФ, мккат/кг	КФ, мккат/кг
1	Норма		25,4±2,6	1,97±0,24
2	Дефект кістки без лікування	10	42,4±3,2 p<0,001	2,36±0,10 p>0,05
3	Дефект кістки + «Bio-Oss»	10	93,0±9,8 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	2,88±0,21 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05
4	Дефект кістки + БКС + «Алфлутоп»	10	74,3±4,7 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	3,25±0,42 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05
5	Дефект кістки + БКС <sub>лег</sub> + «Алфлутоп»	10	73,3±8,2 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 гр.3 p <sub>2</sub> >0,05 гр.4 p <sub>2</sub> >0,05	2,98±0,49 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,05 гр.3 p <sub>2</sub> >0,3 гр.4 p <sub>2</sub> >0,5
2а	Дефект кістки без лікування	30	21,6±2,5 p>0,05	1,27±0,13 p<0,05
3а	Дефект кістки + «Bio-Oss»	30	44,8±4,4 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	1,70±0,22 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05
4а	Дефект кістки + БКС + «Алфлутоп»	30	75,1±9,8 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	2,54±0,49 p>0,3 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05
5а	Дефект кістки + БКС <sub>лег</sub> + «Алфлутоп»	30	60,3±7,2 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05	1,91±0,10 p>0,3 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> >0,3

**Примітки:** p – вірогідність відмінностей порівняно з нормою; p<sub>1</sub> – вірогідність відмінностей порівняно з групами № 2 та 2а; p<sub>2</sub> – вірогідність відмінностей порівняно з групами № 3 та 3а; 8 щурів в кожній групі.

Застосування остеопластичних матеріалів значно збільшує активність ЛФ, що свідчить про стимуляцію остеобластів [96]. Не виявлено суттєвої різниці між матеріалами БКС і «Bio-Oss» при дослідженні в перший термін (10 днів). На 30-й день активність ЛФ у щурів, дефект кістки яких заповнений «Bio-Oss», знижується у 2 рази. Тоді як в групах, у яких використані запропоновані нами композиції, активність ЛФ залишалась високою. Вона достовірно перевищувала рівень активності ЛФ у нижній щелепі щурів, у яких застосовували «Bio-Oss».

За співвідношенням активності ЛФ і КФ розраховували мінералізуючий індекс (МІ) кісткової тканини [96], результати визначення якого представлено на рис. 4.1. Ці дані вказують, що запропоновані нами композиції з БКС і препаратом «Алфлутоп» не поступаються матеріалу «Bio-Oss», а через 30 днів остеотропна композиція № 2, що містить іони срібла та міді, навіть істотно перевищує відповідний показник для матеріалу порівняння «Bio-Oss».



**Рис. 4.1.** Вплив остеотропних матеріалів на мінералізуючий індекс кісткової тканини в ділянці дефекту (1 – норма, 2 – дефект кістки (ДК), 3 – ДК+«Bio-Oss», 4 – ДК+ композиція № 1, 5 – ДК + композиція № 2): \*–  $p < 0,05$  в порівнянні з групою № 1; \*\*–  $p < 0,05$  в порівнянні з групою № 2.

В таблиці 4.2 представлено результати визначення вмісту розчинного білка, кальцію і фосфору в кістковій тканині нижньої щелепи щурів. З наведених даних видно, що вміст розчинних білків кістки мало змінюється при відтворенні дефекту, хоча тенденція до збільшення спостерігається в перший термін (10 днів) і остеопластичні матеріали нормалізують цей показник.

**Показники вмісту білка, кальцію і фосфору в гомогенатах  
кісткової тканини (M±m)**

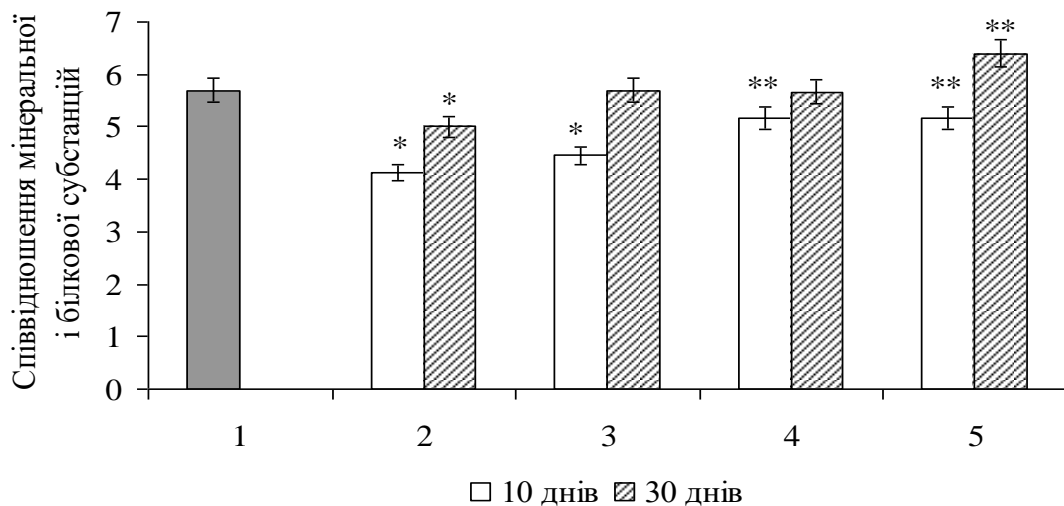
№№ п/п	Групи	Термін, дні	Розчинний білок, г/кг	Кальцій, моль/кг	Фосфор, моль/кг
<b>1</b>	Норма		16,8±0,9	2,39±0,12	1,30±0,05
<b>2</b>	Дефект кістки без лікування	10	19,3±1,3 p>0,05	2,01±0,10 p<0,05	1,21±0,11 p>0,3
<b>3</b>	Дефект кістки + «Bio-Oss»	10	18,6±1,9 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,5	2,08±0,06 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3	1,23±0,02 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,5
<b>4</b>	Дефект кістки + БКС + «Алфлутоп»	10	16,1±0,7 p>0,3 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05	2,08±0,15 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,3 p <sub>2</sub> =1,0	1,30±0,11 p=1,0 p <sub>1</sub> >0,5 p <sub>2</sub> >0,3
<b>5</b>	Дефект кістки + БКС <sub>лег</sub> + «Алфлутоп»	10	16,5±1,6 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,3	2,14±0,05 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,1 p <sub>2</sub> >0,3	1,24±0,07 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,5 p <sub>2</sub> >0,8
<b>2а</b>	Дефект кістки без лікування	30	17,9±1,2 p>0,3	2,24±0,02 p>0,05	1,27±0,06 p>0,5
<b>3а</b>	Дефект кістки + «Bio-Oss»	30	15,4±1,1 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05	2,19±0,06 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,3	1,21±0,08 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,4
<b>4а</b>	Дефект кістки + БКС + «Алфлутоп»	30	15,1±1,5 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,5	2,12±0,07 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,3	1,36±0,07 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,3 p <sub>2</sub> >0,05
<b>5а</b>	Дефект кістки + БКС <sub>лег</sub> + «Алфлутоп»	30	14,6±1,9 p>0,2 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,54	2,27±0,07 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,3 p <sub>2</sub> >0,3	1,26±0,08 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,8 p <sub>2</sub> >0,4

**Примітки:** p – вірогідність відмінностей порівняно з нормою; p<sub>1</sub> – вірогідність відмінностей порівняно з групами № 2 та 2а; p<sub>2</sub> – вірогідність відмінностей порівняно з групами № 3 та 3а; 8 щурів в кожній групі.

Вміст кальцію в кістковій тканині в зоні дефекту достовірно знижується і мало змінюється під впливом остеопластичних матеріалів. Це стосується і вмісту фосфору. Було важливим розрахувати співвідношення вмісту кальцію і концентрації розчинних білків за формулою (4):

$$Ca/Біл = \frac{C_{Ca} \times 40}{C_{біл}}, \quad (4)$$

де  $C_{Ca}$  – вміст кальцію в моль/кг, а  $C_{біл}$  – вміст білку в г/кг. Отримані дані (рис. 4.2) показали, що при відтворенні кісткового дефекту коефіцієнт Ca/Біл достовірно знижується. Під впливом «Bio-Oss» значення цього коефіцієнту повертається до норми лише на 30-й день. Запропоновані нами композиції нормалізують цей показник вже на 10-й день, а на 30-й день під впливом БКС<sub>лег</sub> і препарат «Алфлутоп» він навіть перевищує норму.



**Рис. 4.2.** Вплив остеотропних матеріалів на співвідношення мінеральної і білкової субстанцій кісткової тканини в ділянці дефекту (1, 2, 3, 4 і 5 – див. рис. 4.1): \* –  $p < 0,05$  в порівнянні з групою № 1; \*\* –  $p < 0,05$  в порівнянні з групою № 2.

У таблиці 4.3 представлено результати визначення активності протеолітичних ферментів в кістковій тканині. Один з цих показників, загальна протеолітична активність (ЗПА) відображає активність ряду протеаз, деякі з яких мають відношення до утворення колагену з його попередника [96]. Другий фермент, еластаза, має лейкоцитарне походження і визначає рівень процесу деградації колагену [96].

**Активність протеаз та еластази в гомогенатах  
кісткової тканини ( $M \pm m$ )**

№№ п/п	Групи	Термін, дні	ЗПА, нкат/кг	Еластаза, мккат/кг	ЗПА/ Еластаза
<b>1</b>	Норма		26,8±2,8	5,1±0,5	5,25±0,51
<b>2</b>	Дефект кістки без лікування	10	46,6±4,7 p<0,001	6,6±0,9 p>0,05	7,06±0,84 p<0,05
<b>3</b>	Дефект кістки + «Bio-Oss»	10	31,7±4,1 p>0,03 p <sub>1</sub> <0,05	6,4±0,6 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,7	5,00±0,57 p>0,5 p <sub>1</sub> <0,05
<b>4</b>	Дефект кістки + БКС + «Алфлутоп»	10	36,9±2,9 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	6,8±0,3 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,7 p <sub>2</sub> >0,3	5,40±0,53 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,3
<b>5</b>	Дефект кістки + БКС <sub>лег</sub> + «Алфлутоп»	10	35,3±3,1 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,3	6,8±0,6 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,7 p <sub>2</sub> >0,3	5,19±0,48 p>0,6 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,4
<b>2а</b>	Дефект кістки без лікування	30	36,1±3,1 p<0,05	5,1±0,5 p=1,0	7,08±0,64 p<0,05
<b>3а</b>	Дефект кістки + «Bio-Oss»	30	28,7±2,4 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05	5,2±0,4 p>0,9 p <sub>1</sub> >0,9	5,52±0,51 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05
<b>4а</b>	Дефект кістки + БКС + «Алфлутоп»	30	30,7±2,7 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,3 p <sub>2</sub> >0,4	5,9±0,4 p>0,2 p <sub>1</sub> >0,2 p <sub>2</sub> >0,2	5,20±0,53 p>0,7 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,5
<b>5а</b>	Дефект кістки + БКС <sub>лег</sub> + «Алфлутоп»	30	29,9±2,1 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,5	5,5±0,5 p>0,4 p <sub>1</sub> >0,4 p <sub>2</sub> >0,5	5,44±0,57 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,6

**Примітки:** p – вірогідність відмінностей порівняно з нормою; p<sub>1</sub> – вірогідність відмінностей порівняно з групами № 2 та 2а; p<sub>2</sub> – вірогідність відмінностей порівняно з групами № 3 та 3а; 8 щурів в кожній групі.



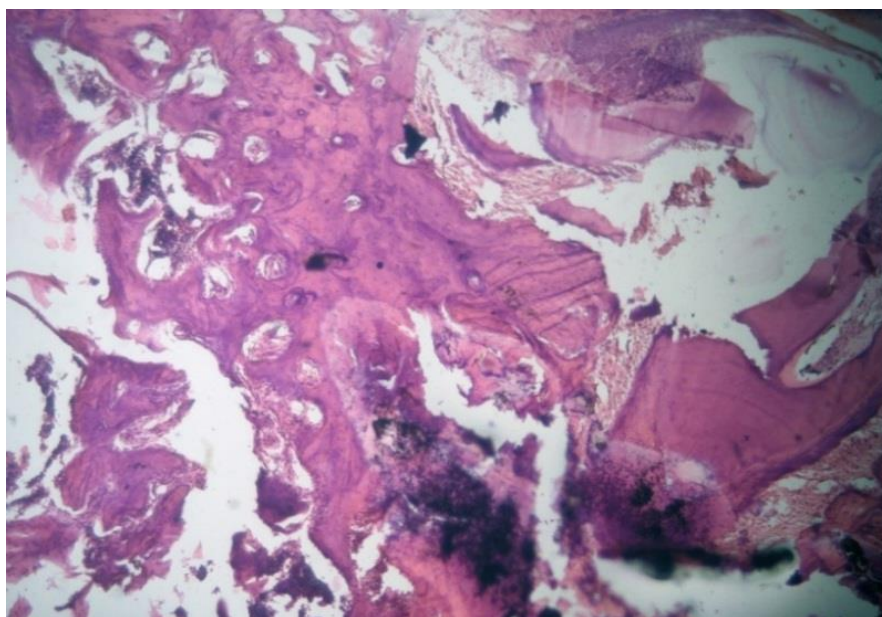
Як видно з представлених в таблиці 4.3 даних, відтворення кісткового дефекту суттєво збільшує ЗПА, а активність еластази проявляє тенденцію до збільшення, однак лише в перший термін (10 днів).

Остеопластичні матеріали значно знижують ЗПА: в більшості випадків, практично до норми. Однак вони мало впливають на підвищений рівень еластази. Підвищене за умови відтворення кісткового дефекту співвідношення ЗПА/еластаза достовірно знижується при дії остеопластичних матеріалів. Не відмічено суттєвої різниці між впливом «Bio-Oss» і запропонованими нами композиціями.

#### **4.2. Гістоморфологічна характеристика репарації кісткової тканини у тварин**

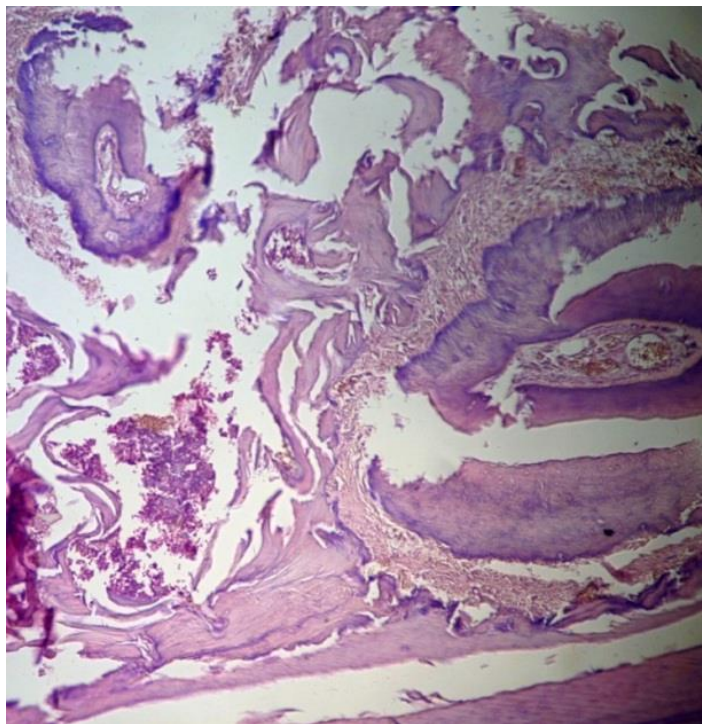
За результатами мікроскопічного дослідження в гістологічних препаратах з інтактної групи щурів у всі терміни дослідження визначалась кісткова тканина альвеолярних відростків щелеп звичайної будови, без особливостей.

В другій групі тварин за 10 діб після формування дефекту виявляються фрагменти кісткової тканини в стані фрагментації від механічного впливу. Окремі фрагменти кісткової тканини оточені фрагментами щільної волокнистої сполучної тканини. Зустрічаються також невеликі фрагменти кісткової тканини, що зазнали некротичних змін. Визначаються фокальні крововиливи у сполучнотканинні утворення. Частина кісткових пластинок піддається частковій резорбції. При цьому, відмічається збільшення їх базофілії та морфологічні ознаки дегенерації остеоцитів. У результаті деструктивних процесів у кістковій тканині з'являються численні пустоти (рис. 4.3).



*Рис. 4.3. Група № 2, дефект кістки без лікування, 10 днів. Деструкція кісткової тканини альвеолярного відростка щелепи. Видимі окремо розташовані фрагменти кісткової тканини, ділянки базofilії та гомогенізації кісткових пластинок. Відмічено зникнення остеоцитів. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб.  $\times 40$ .*

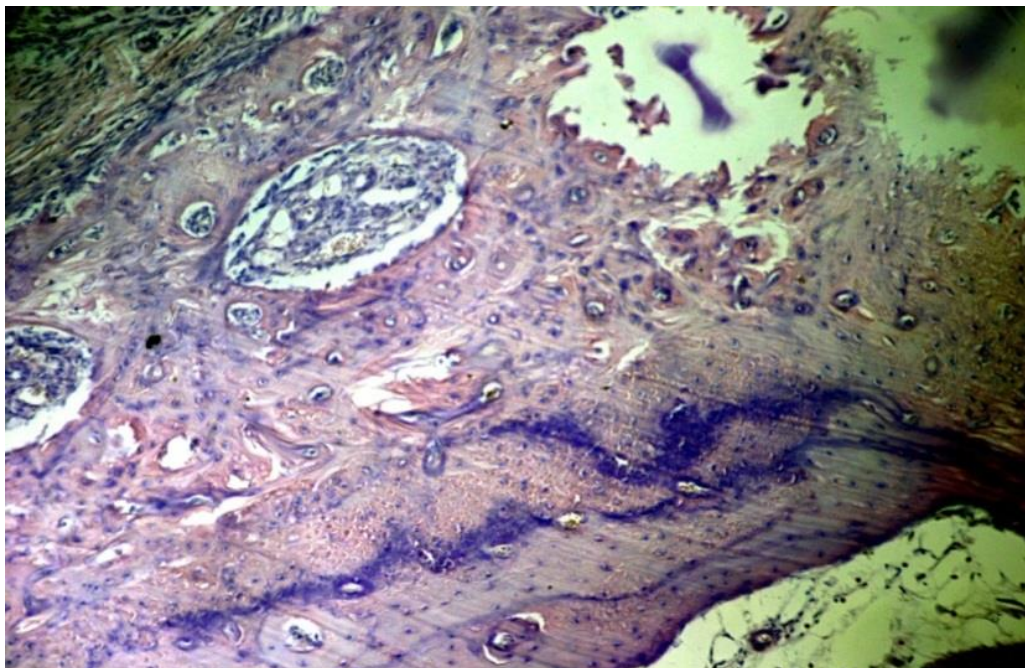
Через місяць після втручання в гістологічних препаратах цієї ж групи тварин виявляється, що фрагменти кісткових пластинок, які збереглися, деформовані, піддаються фокальній декальцинації та оточуються некротично зміненою волокнистою тканиною. Визначається, також, скупчення мілкодисперсного базофільного матеріалу, гемолізованої крові та згустків фібрину (рис. 4.4). Ознаки початку регенерації кісткової тканини або заміщення дефекту фіброзною тканиною відсутні.



*Рис. 4.4. Група № 2, дефект кістки без лікування, 10 днів. Лізис кісткових пластинок, оточених волокнистою тканиною, що просякнута кров'ю. Збарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. ×40.*

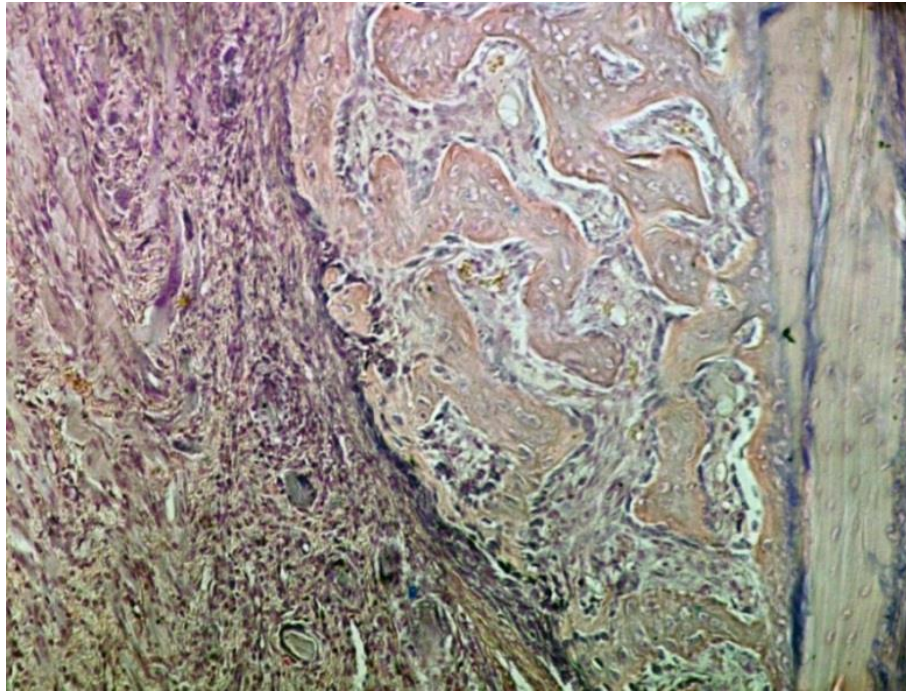
Таким чином, за місяць після формування експериментального дефекту практично відсутні ознаки початку репаративних процесів та формування кісткової тканини.

У групі щурів з заміщенням дефекту кістки остеопластичним матеріалом «Bio-Oss», через 10 діб після оперативного втручання структурні зміни в ділянці кісткового дефекту відрізнялись від вищеописаних та були характерні для патоморфологічних змін при травмі, без використання пластичних матеріалів. В гістологічних препаратах, визначається деструкція та розсмоктування кісткових пластинок. При цьому, в меншому ступені виражена резорбція фрагментів кісткової тканини, відсутні ознаки формування сполучнотканинних утворень (рис. 4.5).



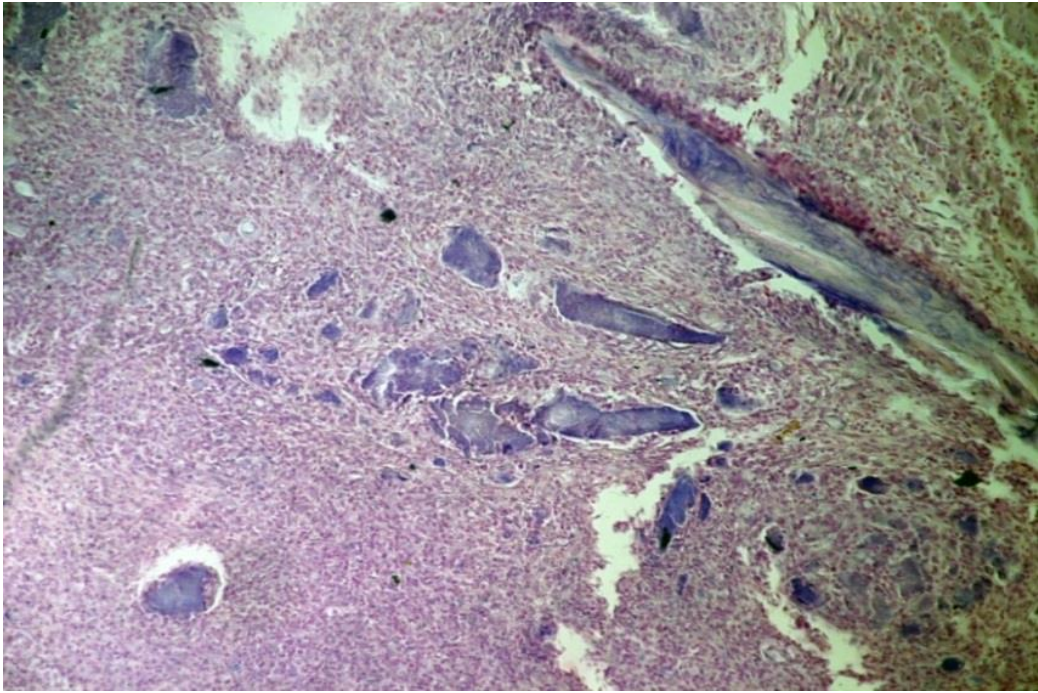
*Рис. 4.5. Група № 3, дефект кістки + «Bio-Oss», 10 днів. Ділянки фокальної деструкції кісткової тканини з порушенням її архітекτονіки, нерівномірним розподілом та дегенерацією остеоцитів. Визначається скупчення базофільної речовини у вигляді смужки, що представляє собою кальцифікацію пошкоджених ділянок. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб. ×70.*

Через місяць у цій групі тварин спостерігаються ознаки репарації, що зводяться до формування навкруги кісткових фрагментів, що збереглися, щільної неоформленої сполучної тканини, яка містить значну кількість різного ступеню зрілості кровоносних судин. При цьому сполучнотканинні утворення щільно прилягають до кістки (рис. 4.6). На межі з сполучною тканиною та фрагментами незрілої кісткової тканини, яка формується, розташовуються активні остеобласти. Невеликі, різної форми та розміру вогнища остеогенезу виявляються в безпосередній близькості від збережених кісткових пластинок, оточених сполучною васкуляризованою тканиною.



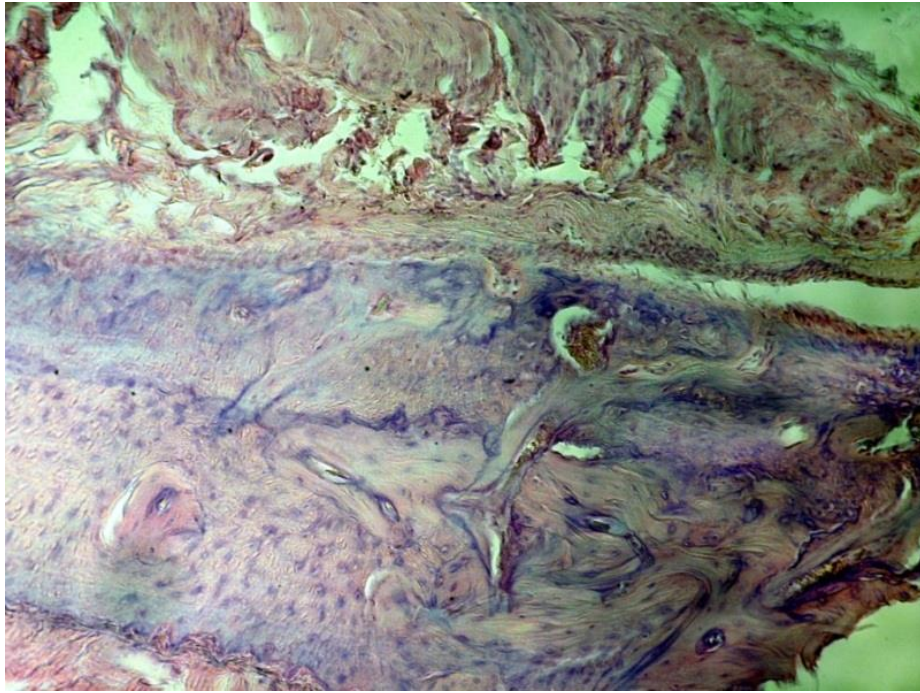
*Рис. 4.6. Група № 3, дефект кістки + «Bio-Oss», 30 днів. Ознаки активного формування кісткової тканини на межі з багатоклітинною волокнистою тканиною. Новосформована тканина містить значну кількість нерівномірно розподілених остеоцитів, оточених слабо базофільною міжклітинною речовиною. Збарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. ×70.*

В гістологічних препаратах 4-ї групи щурів через 10 діб після пластики дефекту структурні зміни кісткових і м'якотканних утворень аналогічні змінам, що виявлені у тварин попередньої групи в ці ж терміни спостережень. Відмічено лише незначну резорбцію продуктів розпаду кісткової та утворення багатоклітинної сполучної тканини, що нагадує грануляційну з наявністю гігантських клітин. Явищ репарації кісткової тканини не виявляється (рис. 4.7).



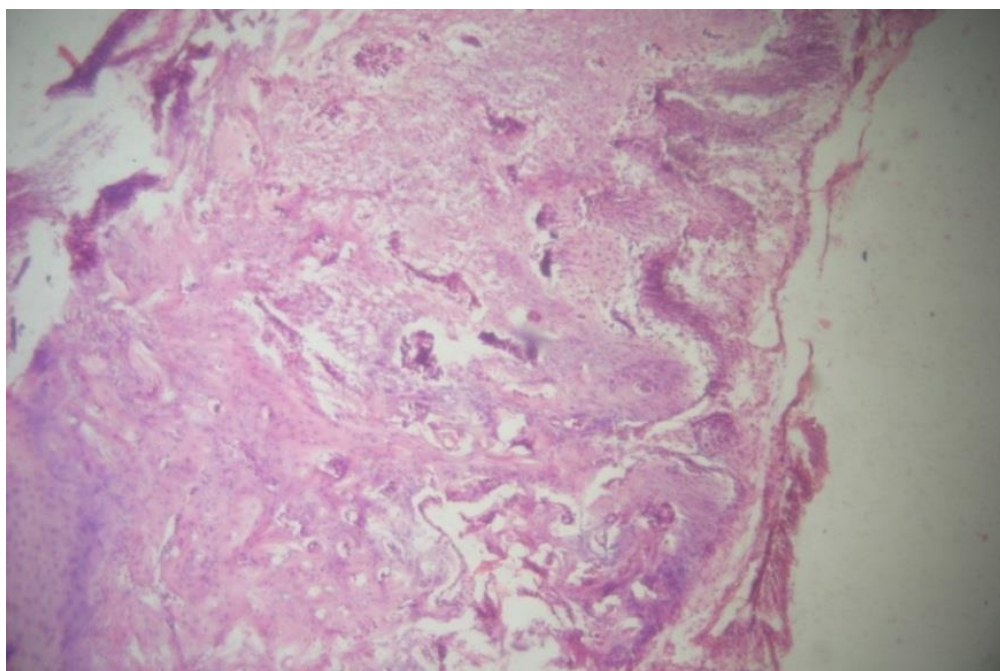
*Рис. 4.7. Група № 4, дефект кістки + композиція № 1, 10 днів. Лізис кісткових пластинок, оточених багатоклітинною грануляційною тканиною, що містить гігантські клітини. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб. ×40.*

Через місяць після заміщення дефекту з використанням остеотропної композиції № 1 у всіх щурів виявляються ознаки замісної репарації, що зводяться до ущемлення сполучної тканини та формуванню біля неї незрілих кісткових балок, орієнтованих у різні напрямки та оточених великими слабкобазофільними клітинами (рис. 4.8). При цьому, спостерігається васкуляризація як сполучної тканини, так і кісткової тканини, що формується. Кількість остеоцитів збільшується та відмічається накопичення значної кількості міжклітинної речовини.



*Рис. 4.8. Група № 4, дефект кістки + композиція № 1, 30 днів. Визначається фрагмент добре васкуляризованої недиференційованої кісткової тканини, що містить велику кількість остеобластів. Міжклітинна речовина слабо базофільна. До кісткової пластинки прилягає щільна волокниста тканина. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. ×70.*

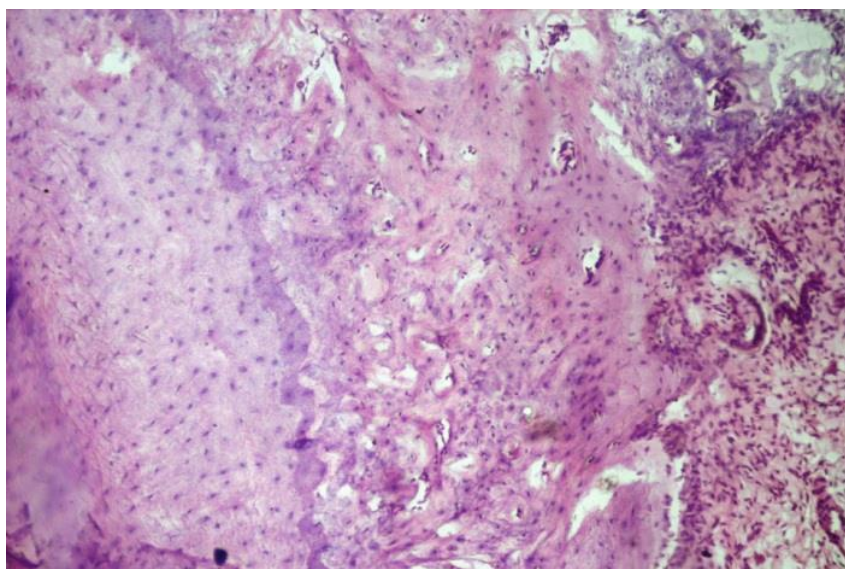
За 10 діб після пластики експериментального дефекту кістки композицією № 2 (5-та група) відмічено фрагментацію та фокальний некроз кісткових пластинок. Кісткова тканина гомогенізується, суттєво зменшуючи кількість остеобластів, а місцями вони взагалі були відсутні. Оточені кісткові пластинки просякнуті кров'ю та багатоклітинною волокнистою тканиною, у склад котрої окрім фібробластів входять лімфоїдні елементи (рис. 4.9).



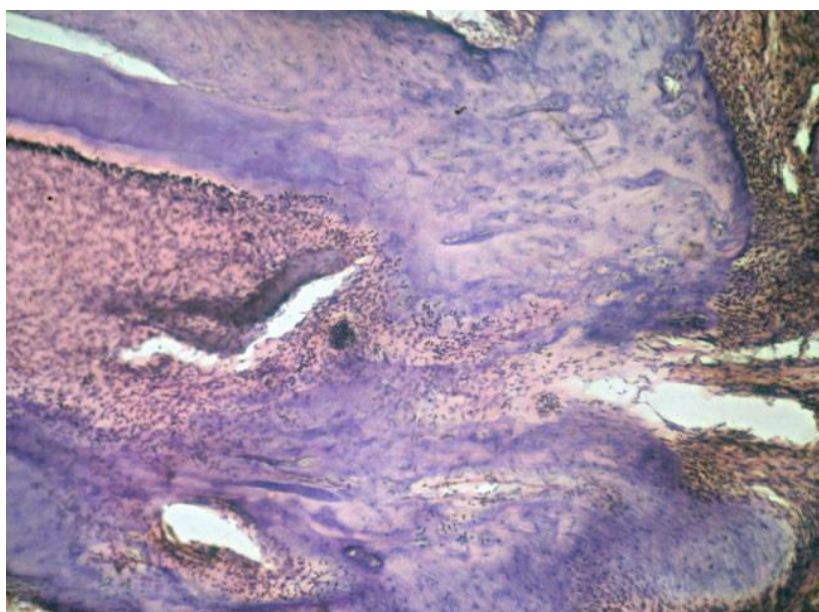
*Рис. 4.9. Група № 5, дефект кістки + композиція № 2, 10 днів. Гомогенізація кісткової тканини, що супроводжується зникненням остеоцитів та фокальними змінами тинкторіальних властивостей. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.  $\times 40$ .*

Проте, через місяць в гістологічних препаратах, з цієї групи тварин, уже спостерігається формування ділянок добре васкуляризованої кісткової тканини, що розташовується поблизу фрагментів деструктивно зміненої кістки (рис. 4.10). Ступінь диференціювання новосформованої тканини в різних місцях різна. Визначаються ділянки достатньо добре сформованої кісткової тканини, що чергуються з ділянками волокнистої, слабо васкуляризованої тканини яка нагадує хрящову (рис. 4.11). В подібних ділянках остеоцити розподілені рівномірно та оточені значною кількістю міжклітинної речовини.





*Рис. 4.10. Група № 5, дефект кістки + композиція № 2, 30 днів. Визначається сформована добре васкуляризована кісткова тканина. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. ×70.*



*Рис. 4.11. Група № 5, дефект кістки + композиція № 2, 30 днів. Визначається знову сформовані ділянки васкуляризованої кісткової тканини, оточені сполучною тканиною. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. ×70.*

**Висновок.** Проведене експериментальне дослідження вказує на те, що характер патоморфологічних змін після формування дефекту з, або без

використання остеопластичних матеріалів на 10 день практично не відрізнявся. Зводяться вони до різного ступеню деструкції кісткових пластинок з їх подальшим лізисом, скупченням базофільної речовини, інфільтрацією лімфоїдними елементами сполучнотканинних структур.

Проте, через місяць після пластики кісткових дефектів характер патологічних змін відрізнявся від контрольної групи щурів, яким не вводилися остеопластичні матеріали, що досліджувались і груп щурів після введення матеріалу «Bio-Oss», остеотропних композицій № 1 та № 2.

Якщо, в першому випадку процеси деструкції кісткових пластинок продовжувались та були слабо виражені явища відновлення елементів кістки або їх заміщення щільною волокнистою тканиною, то при використанні остеопластичних матеріалів процеси замісної репарації більш виражені. При цьому, ознаки запальної реакції були практично відсутні, виявлялась репарація частини кісткових пластинок або заміщення ділянок деструкції щільною сполучною тканиною. Необхідно відмітити, що будь-яких суттєвих якісних та кількісних відмінностей при використанні більш дорожчого ксеногенного матеріалу «Bio-Oss» та остеотропних композицій на основі біокераміки не виявлено.

Результати проведених біохімічних досліджень продемонстрували здатність остеопластичних засобів стимулювати процеси остеогенезу, впливаючи, головним чином, на мінералізувальну функцію, про що свідчить збільшення показника ЛФ/КФ та співвідношення  $S_{Ca}/B_{il}$ . Важливо підкреслити, що запропоновані нами композиції на основі зразків БКС у сполученні з препаратом «Алфлутоп» ні в чому не поступаються остеопластичному матеріалу «Bio-Oss», ксеногенного походження.

Таким чином, отримані нами дані дають певні підстави для можливого використання у стоматологічній практиці вітчизняного остеопластичного біокерамічного композиту, дію якого підсилено препаратом «Алфлутоп», що містить різні ГАГ. А остеопластична біокераміка на основі наноструктурованого композиту, насичена іонами срібла та міді в межах визначеної концентрації (зразок БКС 3), не гальмуючи репарацію кістки, може

застосовуватись у клінічних ситуаціях за яких необхідний і додатковий антибактеріальний вплив (інфіковані кісткові дефекти або кишені).

Результати розділу висвітлені у наступних наукових публікаціях автора:

1. Лисенко О. С. Остеостимулювальна активність остеотропних композицій на основі наноструктурованої біокераміки / О. С. Лисенко, А. П. Левицький, А. В. Борисенко // Вісник стоматології. – 2014. – № 1. – С. 2-8.

2. Морфологічна характеристика використання остеотропних композицій на основі модифікованої біокераміки в експерименті / О. С. Лисенко, А. П. Левицький, А. В. Борисенко, В. В. Віт // Одеський медичний журнал. – 2014. – № 3. – С. 14-21.

3. Характер репарации костного дефекта с применением многокомпонентной биокерамики / А. С. Лысенко, А. В. Борисенко, А. П. Левицкий, В. В. Вит // Дентальная имплантология и хирургия. – 2014. – № 4 (17). – С. 80-85.

4. Лисенко О. С. Перспективи застосування наноструктурованої кальцій-фосфатної біокераміки легованої сріблом та міддю для пластики кісткової тканини: *in vitro* та *in vivo* оцінка / О. С. Лисенко, О. В. Дубок // Український науково-медичний молодіжний журнал : «Youth NanoBiotech – 2015. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю. – 2015. – Спец. вип. № 2 (87). – С. 129-130.

## РОЗДІЛ 5

### РЕЗУЛЬТАТИ КЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### **5.1. Характеристика пацієнтів і пародонтальних кишень у групах дослідження перед хірургічним втручанням**

Проведено комплексне стоматологічне клініко-рентгенологічне та лабораторне обстеження 47 хворих на генералізований пародонтит II та III ступеня, які потребували або були направлені на лікування до Стоматологічного медичного центру та кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

При первинному обстеженні у пацієнтів обох клінічних груп, хворих на генералізований пародонтит II та III ст., діагностовано наявність значної кількості пародонтальних кишень глибиною від 4 до 12 міліметрів. Встановлено значну кількість зубних відкладень, прояви гострого або хронічного катарального симптоматичного гінгівіту різного ступеня тяжкості.

Майже у кожного пацієнта були виявлені каріозні ураження зубів і відсутність хоча б одного зуба. Середнє значення індексу КПВ складало  $5,57 \pm 0,28$ . Усі пацієнти потребували реставраційного етапу лікування, усунення явищ травматичної оклюзії, тимчасового або постійного шинування рухомих зубів. У 34 (72,3%) пацієнтів було визначено навислі краї пломб та ортопедичних конструкцій, нераціональне протезування, похибки моделювання контактних пунктів, різні анатомічні вади. Лише у 13 (27,7%) пацієнтів стан реставраційних та ортопедичних конструкцій був задовільний та не викликав нарікань.

Гігієнічний стан порожнини рота усіх пацієнтів був оцінений згідно індексів ОНІ-S, FMPS, з середнім значенням  $2,57 \pm 0,23$  бали для ОНІ-S, як «незадовільний» та «поганий». Значення індексів РМА та РВІ у 43 хворих відповідали клінічній картині симптоматичного хронічного катарального гінгівіту середнього ступеню, а у 4 пацієнтів (8,5%) – тяжкому.

В основній групі у середніх значеннях індекс ОНІ-S складав  $2,62 \pm 0,31$  бали, а індекс FMPS –  $43,02 \pm 2,71\%$ , у контрольній групі –  $2,38 \pm 0,19$  бали та  $39,3 \pm 2,43\%$  відповідно. Значення індексу запалення тканин пародонта (РМА) при первинному відвідуванні серед пацієнтів основної та контрольної груп складало  $42,6 \pm 1,3\%$ , а кровоточивості сосочків –  $2,68 \pm 0,18$  балів.

При лабораторному дослідженні вмісту пародонтальних кишень у 38 пацієнтів (80,8%) виявлено типову змішану мікрофлору біоплівки, у 9 пацієнтів (19,2%) – додатково міцелій дріжджоподібних грибів, поодинокі трихомонади та спірили.

У визначені терміни усім пацієнтам було проведено комплексну терапію генералізованого пародонтиту згідно протоколів лікування, затверджених Міністерством охорони здоров'я України. Безпосередньо перед розподілом пацієнтів на клінічні групи напередодні хірургічного втручання були завершені усі попередні консервативні методи лікування.

При проведенні професійної гігієни враховували перебіг запального процесу і ступінь рухомості зубів. На етапі передопераційної підготовки здійснювали над'ясений та під'ясений скейлінг переважно комбінованим методом (ультразвуковим і ручним). Проводили видалення зубного каменю та обережне полірування оголених поверхонь зубів у межах рецесії ясен. Остаточний під'ясений скейлінг здійснювали у повному об'ємі при виконанні хірургічних втручань.

При загостреному перебігу генералізованого пародонтиту в перші відвідування обмежувались видаленням м'яких зубних відкладень та проведенням протизапальної терапії. Після усунення явищ загострення проводили професійну гігієну та під'ясений скейлінг в повному обсязі.

Пацієнтам із супутніми соматичними захворюваннями серцево-судинної системи (ендокардит, міокардит, ревматизм, вади серця, гіпертонія, виражений атеросклероз тощо) та у випадках інших системних уражень (цукровий діабет 2-го типу, захворювання сечовидільної системи тощо) перед проведенням гігієнічних заходів призначали консультації відповідних спеціалістів для

призначення антибактеріальних препаратів з метою профілактики можливої транзиторної бактеріємії за загальноприйнятою методикою.

Призначення пацієнтам індивідуальних заходів гігієни проводили диференційно та індивідуально. Проводили ретельний контроль за дотриманням індивідуальної гігієни (значення індексів ОНІ-S та FMPS) на кожному з етапів дослідження з метою максимального збереження досягнутих лікувальних результатів.

Усім пацієнтам залученим до дослідження на етапі передопераційної підготовки проводили санацію порожнини рота, особливо у ділянках де планували хірургічні втручання. Проводили пломбування каріозних порожнин, лікування некаріозних уражень твердих тканини зубів і явищ гіперестезії, заміну неякісних пломб та ортопедичних конструкцій. У разі необхідності (клінічні ознаки запалення пульпи або уражень періодонта) зуби підлягали ендодонтичному лікуванню (депульпуванню). Видаляли зруйновані зуби, зуби зі значною патологічною рухомістю та незадовільним пародонтологічним прогнозом.

Таким чином, перед хірургічним лікуванням було досягнуто усунення явищ запалення та зменшення кровоточивості ясен, значне покращення індексної оцінки гігієни порожнини рота, усунення чи корекція місцевих і загальних етіологічних чинників.

Так, у основній групі вихідний показник індексу ОНІ-S знизився з  $2,62 \pm 0,31$  до  $0,55 \pm 0,12$  балів, а у контрольній групі – з  $2,38 \pm 0,19$  до  $0,67 \pm 0,11$  балів. Отримані значення суттєво відрізнялися в обох групах порівняно з первинним обстеженням ( $p < 0,01$ ). Таким чином, було досягнуто рівня, який відповідав пограничному значенню між «гарною» та «задовільною» гігієною порожнини рота [203].

Досягнуто покращення значень індексу РМА та зменшення загальної кількості пацієнтів, до  $0,89 \pm 0,19$  балів в основній та  $0,87 \pm 0,15$  балів у контрольній групі.

Таке покращення відмічено в обох групах, чим підтверджується

позитивний терапевтичний ефект на першій фазі комплексної терапії. Значення вказаних показників були достовірно ( $p < 0,05$ ) знижені, порівняно з первинним відвідуванням.

Показанням до проведення клаптевих операцій зі застосуванням принципів СТР були внутрішньокісткові пародонтальні кишень, усунення яких неможливе шляхом застосування лише консервативного лікування. Найбільш ефективно проведення подібних операцій за наявності поодиноких чи множинних кісткових пародонтальних кишень з помірною резорбцією кісткової тканини, вертикальні внутрішньокісткові кишень з 2-3 стінками глибиною більше 5 мм, пародонтальні кишень з дефектами кісткової тканини в ділянці фуркації багатокореневих зубів II класу за Хампом.

Незадовільними передумовами для проведення методики СТР слугували: недостатня кількість кератинізованих ясен (менше 2 мм); значно виражені пародонтальні кишень (практично до верхівки кореня зуба) з мінімальною кількістю волокон періодонта, що збереглися; здебільшого горизонтальний тип резорбції кісткової тканини; дефекти в ділянці фуркації зубів III класу за Хампом; пародонтальний абсцес; порушення загального стану пацієнта – інфекційні хвороби та декомпенсація загальносоматичних захворювань; непереносимість або алергійні реакції до компонентів бар'єрних мембран і остеопластичних матеріалів.

Такі хірургічні аспекти як порушення кровопостачання клаптів у разі їх перфорації при формуванні, також, різко обмежували можливості використання пластичних засобів при клаптевих операціях.

За усіма досліджуваними параметрами (у т.ч. рівнем втрати прикріплення, глибиною зондування та величиною рецесії ясен біля залучених пародонтальних кишень) між групами у вихідних значеннях не спостерігалось суттєвих статистичних відмінностей, як відображено у табл. 5.1.

**Характеристика пацієнтів та пародонтальних кишень у основній та контрольній групах напередодні хірургічного лікування**

Перемінна	Група		Значення p**
	Основна група	Контрольна група	
Кількість пацієнтів / пародонтальних к			—
Вік пацієнтів (років,	42,1±1,8	45,2±1,2	
(бал, M±m)	П е р в и н н е  в і д в і д у в а н н я		—



	В и х і д н и й  П о к а з н и к			
	П е р в и н н е  В і д в		—	

	і д у в а н н я		
	В и х і д н и й  П о к а з н и к		
РВІ (бал, $M \pm m$ )	П е р в и		—

	Н Н е  В і Д В і Д У В а Н Н я		
	В и х і Д Н и й  П о к а з		

	Н И К			
Кількість пародонтальних к				
Глибина пародонтальних кишень (мм, $M \pm m$ )				
Рівень втрати прикріплення (мм,				
Рецесія (мм, $M \pm m$ )				
Рентгенологічна глибина дефекту, ЦЕМ-ДК (мм, $M \pm m$ )				
Внутрішньокісткова складова, АГ-ДК (мм, $M \pm m$ )				

\* Парний *t*-тест з попереднім показником,  $p < 0,01$ ; \*\* непарний *t*-тест; ПК – пародонтальна кишеня; ЦЕМ – цементно-емалева межа; АГ – альвеолярний гребінь; ДК – дно пародонтальної кишені.

Значення глибин внутрішньокісткової складової пародонтальних кишень (пародонтального дефекту), визначених за відстанню від альвеолярного гребеня до дна кишені, у середньому склали –  $5,57 \pm 0,42$  мм та  $6,17 \pm 0,37$  мм для основної та контрольної груп відповідно. При загальній середній, рентгенологічно визначеній, глибині кісткових кишень  $9,17 \pm 0,31$  мм (основна група) та  $9,47 \pm 0,32$  мм (контрольна група).

В обох групах діагностували одностінні, двостінні, тристінні, циркулярні

та комбіновані пародонтальні кишені. Не визначено суттєвих відмінностей для кожного з типів пародонтальних кишень в обох групах на початку хірургічного лікування. Міжгруповий розподіл типів пародонтальних дефектів представлено на рис. 5.1.



*Рис. 5.1. Міжгруповий розподіл (%) типів внутрішньокісткових пародонтальних кишень (n – кількість кишень).*

## **5.2. Клініко-рентгенологічна динаміка змін тканин пародонта після хірургічного лікування на етапах дослідження**

Для оцінки ефективності хірургічних заходів проведених у 47 пацієнтів хворих на генералізований пародонтит II та III ст., контрольної та основної груп, було проведено обстеження на наступних етапах спостереження: первинний огляд, після професійної гігієни і консервативного лікування (перед хірургічними втручаннями) і після хірургічного лікування методом СТР у ділянці 56 пародонтальних кишень, залучених до дослідження. Ефективність хірургічного лікування оцінювали за динамікою клініко-рентгенологічних змін у тканинах пародонта у ранній післяопераційний період (7–10, 14 доба), через 3, 6 та 12 місяців. Порівняння досліджуваних показників у клінічних групах

проводили з вихідними та міжгруповими значеннями.

У процесі дослідження було ретельно вивчено стан тканин пародонта, що знаходились у ділянці хірургічного втручання. Визначали ознаки зниження проявів запалення (за показниками ІРЗР, зниження значень індексів РМА, РВІ та GI), покращення гігієнічних індексів (ОHI-S, FMPS та PI) і їх вплив на результати лікування, зниження глибини (чи повне усунення) пародонтальних кишень, підвищення рівня клінічного прикріплення, зміни положення маргінального краю ясен, рентгенологічні ознаки репарації та покращення якості кісткової тканини.

Репаративну регенерацію тканини пародонта, зокрема кісткової тканини, у пацієнтів обох обстежених груп визначали за допомогою рентгенологічного дослідження з використанням мультиспіральної комп'ютерної томографії (МСКТ). Інтерпретацію отриманих результатів щільності кісткової тканини проводили відповідно до діапазонів одиниць Хаунсфільда (HU) на підставі порівняльного аналізу з стандартизованими табличними даними за класифікацією U. Lekholm та G. A. Zarb (1985).

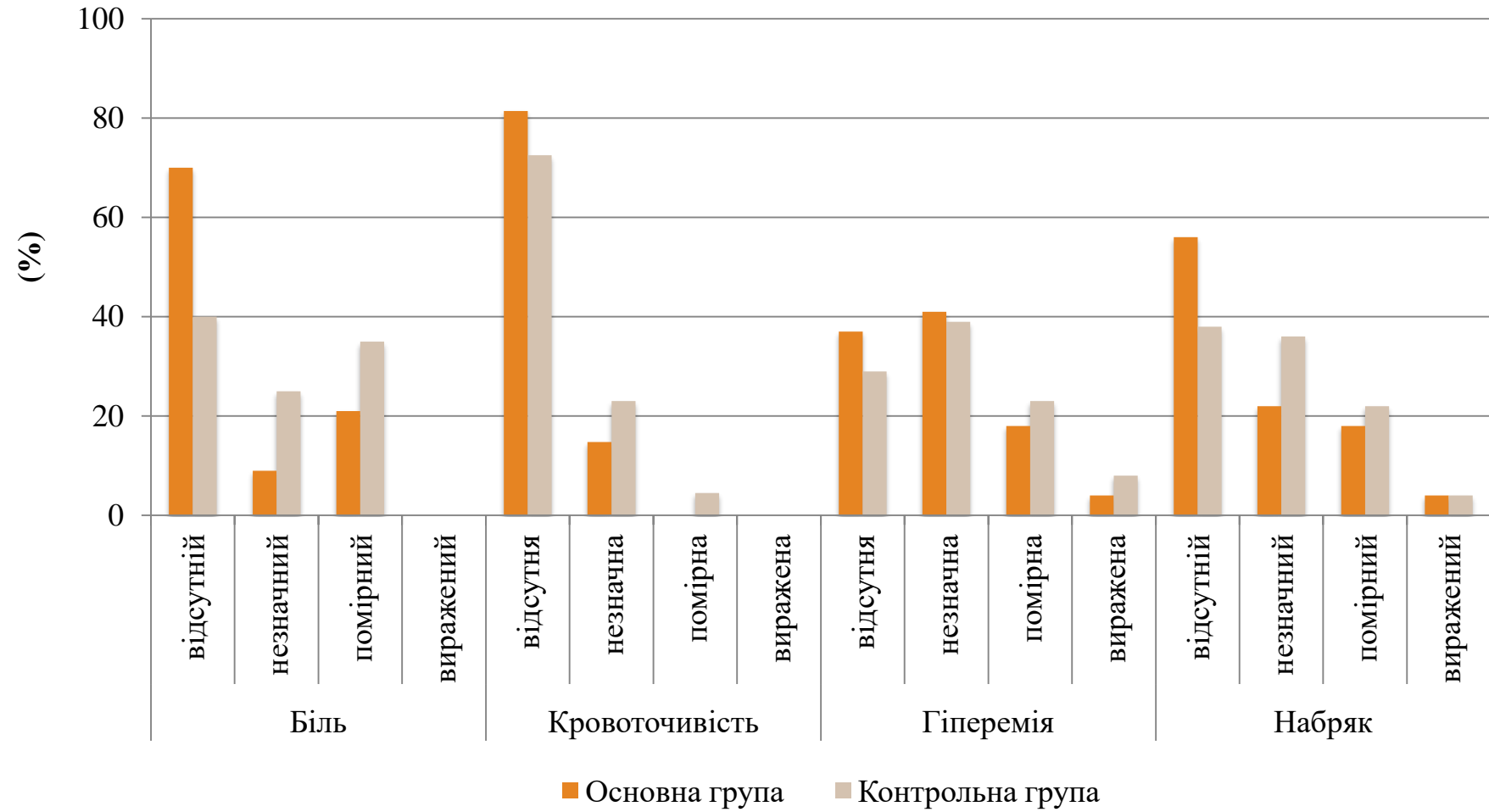
Усіх пацієнтів було оглянуто на третю добу після операції з метою контролю за загоєнням рани та медикаментозної обробки ранової поверхні. У повному об'ємі здійснювали реєстрацію, контроль і ліквідацію післяопераційних ускладнень за їх наявності (розходження країв рани, експозиція або відторгнення колагенової мембрани, інфікування та нагноєння рани, больовий синдром).

Зняття швів проводили на сьому-десяту добу залежно від індивідуальної клінічної ситуації. У першу чергу усували провислі чи ослаблені шви, остаточно увесь шовний матеріал вилучали через два тижні після хірургічного втручання.

У перші дні після хірургічного втручання загальний стан пацієнтів у всіх клінічних групах відповідав тяжкості перенесеної операції. набряк післяопераційних м'яких тканин наростав помірно протягом перших двох-трьох діб і зникав повністю на сьому добу у основній групі, на восьму-дев'яту добу у контрольній групі. Гіперемія тканин післяопераційної ділянки утримувалась

протягом п'яти-шести діб в обох групах. Відразу після операції рухомість зубів, якщо вони не були попередньо шиновані, дещо зростала і поверталась до початкового стану через 14–17 діб.

Розподіл вираженості дискомфорту для пацієнтів за інтенсивністю болю, кровоточивості за анкетними даними, набряку та гіперемії тканин при об'єктивному огляді протягом перших 7–10 діб після хірургічного втручання відображено на рис. 5.2.



*Рис. 5.2. Відсоткове співвідношення факторів дискомфорту для пацієнтів у найближчі терміни після операції (%).*



Післяопераційні больові відчуття спостерігали у 8-ми (29,6%) ділянках з основної групи, а у контрольній групі – 17-ти (58,6%) ділянках. Переважала помірна інтенсивність болю в обох групах. Відсутність будь-яких дискомфортних явищ при застосуванні запропонованої остеотропної композиції на 30% перевищувало подібне значення у контрольній групі. У основній групі визначено 19 (70,3%) ділянок без проявів дискомфорту, а у контрольній групі лише 12 (41%) ділянок.

При об'єктивному огляді відсутність явищ кровоточивості відмічено у 22-ти (81,4%) ділянках з основної групи, у той час як в останніх 2-х (7,4%) ділянках спостерігались незначні прояви кровоточивості. На противагу цьому, кровоточивість (різної інтенсивності) у контрольній групі спостерігалася у 8-ми (27,5%) післяопераційних ділянках.

У ці ж терміни у ділянках де проводили втручання переважала незначна гіперемія – в 11-ти (41%) ділянках з основної групи, 12-ти (39%) ділянках з контрольної групи і відсутність помітного набряку цих тканин серед 15-ти (56%) ділянок у основній групі та 11-ти (38%) – у контрольній групі. Між тим виражений набряк був діагностований у приблизно 4% випадків в обох групах, відповідно 1 та 2 ділянки у групах порівняння. Незначний набряк визначений серед 6-ти післяопераційних ділянок у основній групі та в 10-ти – з контрольної групи, що на 14% переважало подібне значення у групі порівняння. Помірна та виражена гіперемія м'яких тканин також частіше спостерігалася при застосуванні комбінації ксеногенних матеріалів «Bio-Oss» і «Bio-Gide» (контрольна група) відповідно у 23% та 8% післяопераційних ділянок.

Таким чином, вірогідної відмінності між групами за вказаним показниками вираженості болю, кровоточивості, набряку та гіперемії м'яких тканин післяопераційних ділянок не виявлено ( $p > 0,05$ ). Проте визначено помірне переважання запропонованої нами остеопластичної композиції у зниженні дискомфорту для пацієнтів на ранніх термінах при хірургічному лікуванні пародонтальних кишень. У контрольній групі визначена більш виражена тенденція до виникнення скарг пацієнтів (див. рис. 5.3).

Порівняння результатів загоєння післяопераційних ран, здійснено згідно

індексної оцінки за «індексом раннього загоєння рани» – IP3P (H. Wachtel зі співавт., 2003). На 7-му добу дослідження повне сполучення клаптів та ознаки загоєння післяопераційних ран первинним натягом незначно переважало в основній групі – 14 (52%) ділянок основної групи порівнюючи з 11-ю (38%) ділянками у контрольній групі. Проте після 14-ої доби спостереження не виявлено суттєвої різниці між групами пацієнтів. 18 (66,6%) ділянок з основної групи та 17 (58,6%) ділянок контрольної групи через два тижні демонстрували загоєння післяопераційної рани первинним натягом, через повне сполучення клаптів за відсутності фібринового випоту на контактуючих поверхнях.

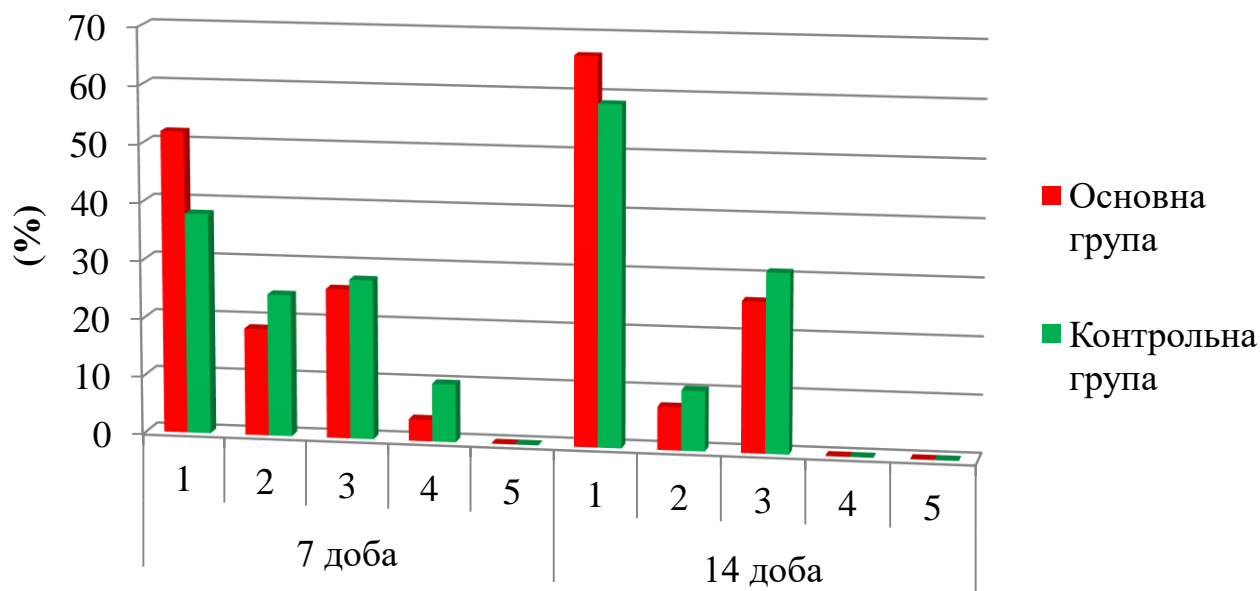
Утворення фібринового випоту чи плівок і рясних фібринових нашарувань на контактуючих поверхнях післяопераційних ран визначено у 12-ти (44,3%) ділянках основної групи та 15-ти (52%) ділянках контрольної групи, протягом перших 7-ми діб. На 14-ту добу подібне відсоткове співвідношення зберігалось з тенденцією до більш виразного утворення фібринового випоту у контрольній групі порівнюючи з основною, 9-ть (31%) ділянок проти 7-ми (26%) ділянок відповідно.

Ускладнення зумовлені частковим некрозом контактуючих поверхонь клаптів у ділянці міжзубних сосочків в обох групах виявлена переважно протягом першого тижня: 1 (3,7%) ділянка у основній групі проти 3 (10%) ділянок у контрольній групі. Клінічно це проявлялось у вигляді розходження країв рани з незначною експозицією бар'єрної мембрани між контактуючими поверхнями клаптів. Це ускладнення ліквідовувалося самочинно, за рахунок вторинного натягу тканин, після призначення протизапальної та антибактеріальної терапії.

Лише у двох ділянках, по одній з кожної групи (3,7% та 3,4% відповідно), у терміни спостереження більше двох тижнів відмічено відторгнення колагенової мембрани «Bio-Gide». Слід відмітити, що зазначене клінічне ускладнення вплинуло на результати репаративної регенерації тканин пародонта в цих ділянках. Серед ймовірних причин слід зазначити можливість індивідуальної непереносимості ксеногенних мембран або порушення кровопостачання клаптів.

Ускладнень гнійно-запального характеру (гнійна ексудація, формування абсцесів) чи відторгнення гранул остеопластичних матеріалів, не виникало протягом усього періоду спостереження в обох клінічних групах.

Відсоткове співвідношення пацієнтів з ІРЗР, 1–5 балів, на перший та другий тиждень після хірургічного лікування показано на рис. 5.3.



**Рис. 5.3.** Розподіл показників (%) індексу раннього загоєння рани (за між групами дослідження):

1 – **повне сполучення** клаптів, відсутність фібринового випоту на поверхнях, що контактують;

2 – повне сполучення клаптів, **тонка фібринова плівка** на поверхнях, що контактують;

3 – повне сполучення клаптів, **фібриновий згусток** фіксований на поверхнях, що контактують;

4 – розходження країв рани, **частковий некроз** оточуючих тканин;

5 – розходження країв клаптів, **повний некроз** тканин.

У пацієнтів основної групи визначено чітку тенденцію до покращення післяопераційного загоєння ран, порівняно з контрольними ділянками за показниками ІРЗР. Однак, виразної статистично значимої різниці при

міжгруповому порівнянні перебігу ранового процесу протягом раннього п

і Через три місяці після оперативного лікування значна частина пацієнтів усіх груп обстеження відзначала покращення в ділянках втручання. Зникали відчуття дискомфорту у тканинах пародонта, спостерігали нормалізацію функції навантажених зубів. При об'єктивному обстеженні слизової оболонки виявлено блідо-рожевий колір ясенного краю та прикріплених ясен. Спостерігались ознаки початку відновлення конфігурації ясенних сосочків в обох групах.

р Спостерігалась тенденція до збільшення рецесії ясенного краю в обох групах. Так у пацієнтів основної групи визначено збільшення рецесії ясен майже у півтора рази: до лікування  $-1,44 \pm 0,17$  мм, а через три місяці після оперативного втручання  $-2,24 \pm 0,21$  мм ( $p < 0,05$ ). У пацієнтів контрольної групи також спостерігалось збільшення рецесії, проте, помірніше: до лікування  $-1,51 \pm 0,18$  мм, три місяці потому  $-2,13 \pm 0,14$  мм ( $p < 0,05$ ).

о Показник глибини пародонтальних кишень в основній групі істотно

з

о

е

н

ш

й

і

о

д

у

н

д

с

і

в

н

я

Значно помірніше відбувалось зменшення рівня втрати прикріплення. За цим показником не виявлено суттєвої переваги у жодної з використаних комбінацій остеопластичних препаратів ( $p > 0,05$ ). В основній групі рівень втрати клінічного прикріплення у середньому зменшився на 40,6%: до лікування  $-8,37 \pm 0,35$  мм, через три місяці після оперативного втручання  $-4,97 \pm 0,39$  мм ( $p < 0,01$ ). У групі порівняння – на 38,1%: до лікування  $-8,57 \pm 0,37$  мм, три місяці після оперативного втручання  $-5,31 \pm 0,21$  мм ( $p < 0,01$ ).

Таким чином, через три місяці після здійсненого хірургічного лікування в

обох групах виразно спостерігалась тенденція до зменшення рівнів втрати клінічного прикріплення та глибини пародонтальних кишень порівняно з вихідними значеннями, проте без істотних відмінностей (табл. 5.2). Перевага у зменшенні глибини кишень на нашу думку була обумовлена саме підвищенням рівня рецесії ясенного краю.

Визначене зростання гігієнічних індексів Гріна-Вермільона (ОHI-S) та О'Leary (FMPS) (табл. 5.3). Це демонструвало незначне погіршення загального гігієнічного стану порожнини рота, без статистично достовірної різниці між групами ( $p > 0,05$ ). Не виявлено суттєвої різниці у значенні місцевого гігієнічного стану оціненого за індексом Сілнес-Лоу (PI). Так у основній групі до лікування у середньому він складав  $0,16 \pm 0,05$  бали, а після оперативного

в  
т виявлене погіршення гігієнічного стану спонукало до посилення індивідуальних гігієнічних заходів у тих пацієнтів, що погано дотримувались рекомендованих правил раціональної гігієни порожнини рота. Пацієнтів додатково мотивували для дотримання задовільних гігієнічних показників.

а На фоні погіршення загального гігієнічного стану, через три місяці, зареєстровано погіршення індексної оцінки проявів запалення тканин пародонта у цілому. Виявлено збільшення індексу РМА на 18,5–38% (табл. 5.4) в обох групах. Папілярний індекс кровоточивості (РВІ) при цьому залишався практично без змін ( $p > 0,05$ ).

– На противагу цим показникам, гінгівальний індекс Сілнес-Лоу (GI) безпосередньо в післяопераційних ділянках вказував на суттєве зниження явищ запалення тканин пародонта. У післяопераційних ділянках пацієнтів основної групи GI змінився наступним чином: до лікування –  $0,52 \pm 0,07$  бали, через три місяці після операції –  $0,13 \pm 0,02$  бали. Це свідчить про зменшення запалення

в

а

й

ж

е

5

н

терміни спостереження.

Через шість місяців після оперативного лікування усі пацієнти обох груп обстеження відзначали повне благополуччя в ділянках втручання. Повне зникнення відчуття дискомфорту у тканинах пародонта, відмічалась нормалізація функції навантажених зубів. За показаннями усувались тимчасові шинуючі конструкції. Об'єктивне обстеження слизової оболонки демонструвало блідо-рожевий колір ясенного краю та прикріплених ясен. Завершувалось відновлення конфігурації ясенних сосочків в обох групах – вони ущільнювались і рівномірно займали міжзубні проміжки, щільніше прилягаючи до пришийкових ділянок зубів.

Зберігалась тенденція до збільшення рецесії ясен в обох групах. У основній групі виявлено збільшення рецесії ясенного краю на 4,9% порівняно з трьохмісячним терміном спостереження: до лікування –  $1,44 \pm 0,17$  мм, через шість місяців після оперативного втручання –  $2,35 \pm 0,19$  мм ( $p < 0,05$ ). У пацієнтів контрольної групи спостерігали більш помірніше збільшення рецесії на 3,7% порівняно з попереднім результатом: до лікування –  $1,51 \pm 0,18$  мм, через три місяці після операції –  $2,21 \pm 0,16$  мм ( $p < 0,05$ ).

**Динаміка клінічних показників рівня втрати прикріплення, глибини пародонтальних кишень  
та рецесії ясенного краю по групах**

К л і н і ч н и й  п о к а з н и к	Вихідний показник (ВП)	3 місяці	місяців	12 місяців	Показник р* (ВП-3 міс.)	Показник р* (ВП-6 міс.)	Показник р* (ВП-12 міс.)
Р і в е н ь  в							

Т р а т и  п р и к р і п л е н н я  ( м м							



							$\leq 0,01$

Н а ч е н н я  П о к а з н и к							

а							
Г л и б и н а п а р о д о н т а л ь н и х  к и ш е							

Н Б ( М М							

Н а ч							

е н я  п о к а з н и к а							
Р е ц е с і я ( М М							



Н а ч е н н я  П о к а							



З Н И К а							
-----------------------	--	--	--	--	--	--	--

\* Парний *t*-тест, \*\* непарний *t*-тест, *n* – кількість пародонтальних кишень.

Таблиця 5.3

### Динаміка показників індексної оцінки гігієнічного стану

Гігієнічний індекс	Вихідний показник (ВП)	3 місяці	місяців	12 місяців	Показник $p^*$ (ВП-3 міс.)	Показник $p^*$ (ВП-6 міс.)	Показник $p^*$ (ВП-12 міс.)
Основна група							$\leq 0,01$
Контрольна група							
Значення показника							
(бал, $M \pm m$ )							



Основна група							
Контрольна група							
Значення показника							
РВІ (бал,							
Основна група							
Контрольна група							
Значення показника							
(бал, $M \pm m$ )							
Основна група							
Контрольна група							
Значення							

показника							
-----------	--	--	--	--	--	--	--

*\* Парний t-тест, \*\* непарний t-тест, n – кількість пародонтальних кишень.*

Через шість місяців показник глибини пародонтальних кишень у основній групі зріс на 19,3% порівняно з трьохмісячним показником і склав після лікування глибина пародонтальних кишень складала  $3,72 \pm 0,27$  мм, що на 20,1% переважало попередній результат. Порівняння у цей період визначених показників між групами не виявило істотної переваги жодної з методик ( $p > 0,05$ ).

Рівень втрати клінічного прикріплення демонстрував незначне підвищення. В основній групі рівень втрати клінічного прикріплення збільшився на 11,4% порівняно з трьохмісячним результатом, що менше за початковий показник на 33,8%: до лікування –  $8,37 \pm 0,35$  мм, через шість місяців після оперативного втручання –  $5,54 \pm 0,32$  мм ( $p < 0,01$ ). У контрольній групі він зріс на 9,8% порівняно з трьохмісячним результатом на 31,9% став менше за початковий показник: до лікування –  $8,57 \pm 0,37$  мм, через шість місяців після операції –  $5,83 \pm 0,26$  мм

Через шість місяців після хірургічного лікування в обох групах продовжувалась тенденція до зменшення рівня втрати клінічного прикріплення та глибин пародонтальних кишень порівняно з вихідними значеннями. Між тим середні значення цих показників дещо понизились відносно результатів на третій місяць спостереження (табл. 5.2). Істотної відмінності ці значення в обох групах не мали.

Усупереч підвищенню гігієнічних заходів і вимог до пацієнтів щододотримання індивідуальної гігієни порожнини рота і на шостий місяць гігієнічні індекси ОНІ-S та FMPS мали тенденцію до збільшення (табл. 5.3). Суттєвих відмінностей між групами ( $p > 0,05$ ) не виявлено. В основній групі індекс

О

Н

І

- Наведені обставини спонукали до висновку, що пацієнти обох груп **бетельніше** дотримувались гігієнічних процедур саме у післяопераційних ділянках. У тих сегментах, де не проводили хірургічні процедури, навіть, після

д

о

закінчення перших фаз комплексного лікування зростав рівень утворення м'яких та твердих зубних відкладень.

Через шість місяців індексна оцінка явищ запалення ясен змінювалась не суттєво порівняно з результатами третього місяця (табл. 5.4). Індокси РМА та РВІ у 17% хворих мали тенденцію до зниження, а у 24% – до збільшення. Середній

п  
о  
к  
а  
з  
н  
и  
к

і На противагу цьому гінгівальний індекс GІ, визначений безпосередньо в нісляопераційних ділянках, незначно погіршився лише у пацієнтів контрольної групи. Через шість місяців середнє значення цього показника становило

є  
н  
д  
у

к На дванадцятий місяць після проведення остеопластичних втручань на тканинах пародонта, спостерігалась стабілізація патологічних процесів у післяопераційних ділянках всіх груп пацієнтів. Повністю зникали відчуття дискомфорту та інші симптоми у тканинах пародонта, відмічалась нормалізація функції зубів, повністю зникла рухливість зубів. При об'єктивному обстеженні визначено блідо-рожевий колір слизової оболонки маргінального краю та прикріпленої частини ясенв обох групах. Повне відновлення конфігурації ясенних сосочків – вони ущільнювались та рівномірно займали міжзубні проміжки, щільно прилягаючи до зубів.

н  
е  
т

На дванадцятий місяць також зберігалася тенденція до збільшення рецесії ясен в обох групах. Порівняно з показниками на шостий місяць рецесія ясен у обох групах збільшилася на 7,5–8,5%. За рік в основній групі даний показник

з  
б  
і  
л  
ь  
ш  
и

в Таким чином, в обох групах дослідження протягом усіх термінів обстеження поступово спостерігалось збільшення рецесії ясен. Через рік після оперативного втручання в основній групі вона у середньому збільшилась на  $1,1 \pm 0,19$  мм, у контрольній групі – на  $0,9 \pm 0,12$  мм відносно початкових значень (табл. 5.5).

н  
а

б  
б  
,  
2  
%  
:

д  
о

л  
і  
к  
у  
в  
а

Таблиця 5.5

## Динаміка основних клінічних показників по групах протягом 3, 6 та 12 місяців спостереження

	Зменшення рівня втрати прикріплення на, мм				Зниження глибини пародонтальних кишень на, мм				Приріст рівня рецесії на, мм		
	3 міс.	6 міс.	12 міс.	ВП-12	3 міс.	6 міс.	12 міс.	ВП-12	3 міс.	6 міс.	12 міс.
Основна група (n=27)											
Середнє значення (M)	3,40	2,93	2,55	30,4%	4,30	3,79	3,7	53,5%	0,80	0,91	1,1
Стандартне відхилення середньої ( $\pm m$ )	$\pm 0,37$	$\pm 0,41$	$\pm 0,38$		$\pm 0,31$	$\pm 0,33$	$\pm 0,35$		$\pm 0,26$	$\pm 0,24$	$\pm 0,19$
Контрольна група (n=29)											
Середнє значення (M)	3,26	2,74	2,40	28,0%	3,98	3,34	3,2	45,7%	0,62	0,71	0,9
Стандартне відхилення середньої ( $\pm m$ )	$\pm 0,23$	$\pm 0,19$	$\pm 0,28^*$		$\pm 0,19$	$\pm 0,18^*$	$\pm 0,17^*$		$\pm 0,13$	$\pm 0,11$	$\pm 0,14$
Значення $p^{**}$	0,74	0,67	0,72		0,37	0,23	0,19		0,53	0,44	0,38

\* Парний t-тест,  $p < 0,05$  порівнюючи з результатом на 3 місяць; \*\* непарний t-тест, n – кількість пародонтальних кишень.

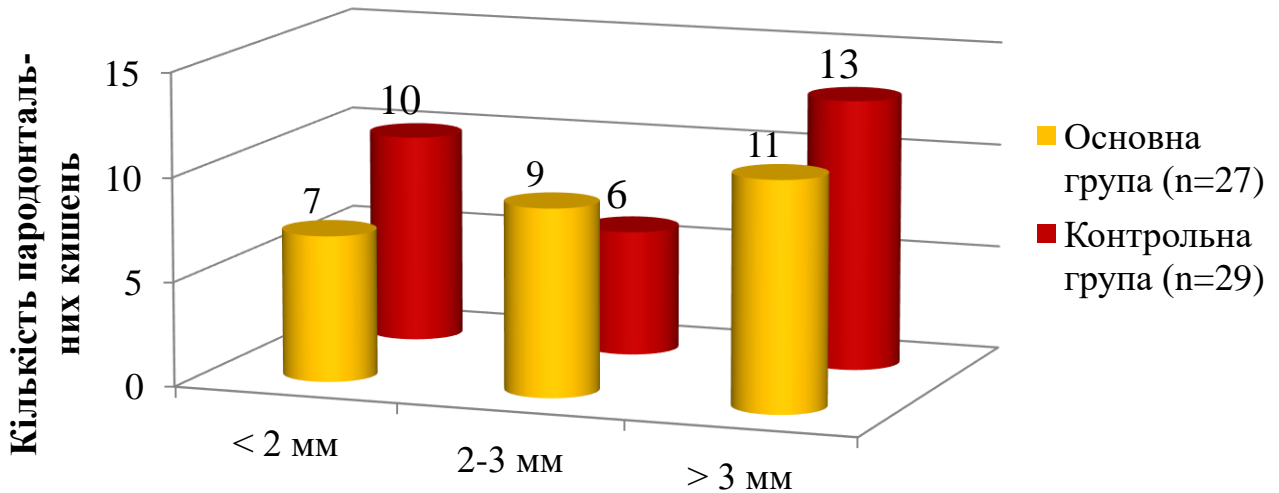


Показник глибини пародонтальних кишень у пацієнтів основної групи зріс на 2,5% порівняно з попереднім значенням і склав  $3,22 \pm 0,36$  мм. Такі ж зміни відмічались і у контрольній групі, де через дванадцять місяців після лікування глибина кишень склала  $3,86 \pm 0,24$  мм, що на 3,7% переважало попередній результат. Порівняння значень показника не визначило істотної переваги у жодній з груп ( $p > 0,05$ ).

Рівень втрати клінічного прикріплення демонстрував підвищення і через дванадцять місяців, однак менш виражене ніж на шостий місяць. В основній групі рівень втрати клінічного прикріплення збільшився на 4,8% (через рік –  $5,81 \pm 0,31$  мм) порівнюючи з шестимісячним результатом, і менше за показник до лікування на  $2,55 \pm 0,38$  мм ( $p < 0,01$ ). У контрольній групі даний показник зріс проте він став менше за показник до лікування на  $2,40 \pm 0,18$  мм ( $p < 0,01$ ).

Клінічне дослідження продемонструвало утворенням нового рівня клінічного прикріплення, до 4–5 мм, через рік після хірургічного лікування в обох групах. В основній групі відмічалось наростаюче розподілення пародонтальних кишень за показником зниження втрати прикріплення: у 25,9% відмічено зменшення втрати прикріплення у межах 2 мм, в 33,4% – 2–3 мм та редукція більше 3 мм спостерігалась у 40,7% від загальної кількості досліджуваних кишень. У контрольній групі переважала кількість пародонтальних кишень у яких зменшення рівня втрати прикріплення було мінімальним (34,5%) і найбільшим (44,8%), а редукція у межах 2–3 мм спостерігалась лише у 20,7% від загальної кількості досліджуваних кишень.

Розподіл пародонтальних кишень залежно від рівня редукції втрати клінічного прикріплення наведено на рис. 5.4.



### Зменшення рівня втрати прикріплення

*Рис. 5.4. Розподіл (кількість) пародонтальних кишень залежно від зменшення рівня втрати прикріплення через рік після хірургічного лікування по групах, n – загальна кількість пародонтальних кишень у групі.*

На дванадцятий місяць після хірургічного лікування в обох групах спостерігалось зменшення рівнів втрати клінічного прикріплення та глибини пародонтальних кишень порівняно з вихідними значеннями. У контрольній групі рівень втрати клінічного прикріплення знизився на 28,0%, а у основній групі на – 30,4%. Глибина кишень знизилась більш виразно: в основній групі на 53,5% і на 45,7% – у контрольній групі (табл. 5.5). Середні значення цих показників незначно знизились відносно результатів на шостий місяць спостереження, причому з меншою інтенсивністю протягом перших шести місяців дослідження. Істотної відмінності ці значення в обох групах також не мали ( $p>0,05$ ).

Г

і

г

і

є

н

і

ч

задовільні показники гігієни в усіх післяопераційних ділянках і через рік після хірургічного лікування (табл. 5.3).

На дванадцятий місяць індексна оцінка запальних явищ пародонта змінювалась несуттєво порівняно з результатами шостого місяця (табл. 5.4). Це вказувало на певну стабілізацію патологічного процесу у тканинах пародонта. Як і на шостий місяць індекси РМА та РВІ у 54% ділянок мали тенденцію до зниження, а у 46% ділянок – до збільшення в обох групах. Середній показник

і  
н  
д  
е  
к  
с

у Напроти, локально визначений, індекс GI мав тенденцію до погіршення лише у контрольній групі. Він зріс до середнього показника  $0,29 \pm 0,05$  бали. Через рік після операції, що переважає подібний результат на шостий місяць ( $0,26 \pm 0,04$  бали). У ці ж терміни спостереження в основній групі зміни значень

А  
і  
н

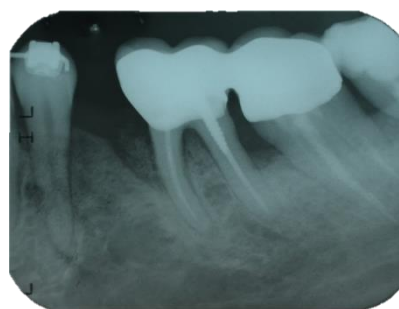
е Аналіз результатів рентгенологічного дослідження у динаміці лікування продемонстрував, що явища перебудови кістки альвеолярного відростка в ділянці кісткових кишень відмічаються починаючи з 4,5–5,0 місяця у пацієнтів контрольної групи, і з 3,5–4,0 місяця – у пацієнтів основної групи. На прицільних та панорамних рентгенограмах у ці терміни починає відмічатися відновлення кісткового малюнка. Завершення репаративної регенерації кісткової тканини альвеолярного відростка в ділянці кісткових кишень відмічається починаючи з 9-го – 10-го місяця – у пацієнтів контрольної групи, і в 8-го – 9-го місяця – у пацієнтів основної групи. Це може свідчити про певну оптимізацію процесів відновлення кісткової тканини при використанні запропонованої нами методики. Остаточне формування кісткової тканини

і  
н

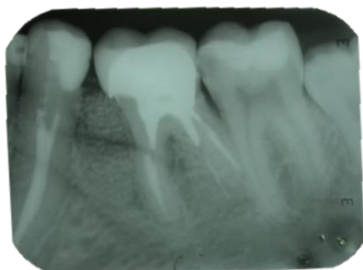
відбувалось лише починаючи з 12-го – 18-го місяця без переваг з боку кожної з клінічних груп. Рентгенологічне дослідження показало, що навіть через рік не спостерігали утворення кісткового аугментату в ділянці 1-ої (3,7%) кісткової кишені пацієнтів основної групи та 2-х (6,8%) – у пацієнтів контрольної групи. У цих випадках рентгенологічна тінь від остеопластичного матеріалу продовжувала виявлятися без змін протягом усього періоду спостереження. Динаміка рентгенологічних змін при використанні запропонованої композиції в основній групі представлено на рис. 5.5.



*Пацієнтка Б., 1969 р.н.,  
генералізований пародонтит, II ст.,  
пародонтальна кишеня з залученням  
фуркації 36 зуба*



*Таж пацієнтка, результат лікування  
через 6 місяців. Визначаються ранні  
ознаки утворення мінералізованої  
кісткової тканини в ділянці кісткової  
кишені з заповненням дефекту в  
ділянці фуркації*



*Пацієнт К., 1977 р.н., глибока пародонтальна кишеня в ділянці 35–36 зубів пластично заповнена остеотропною композицією з мембраною «Bio-Gide»*

*Той же пацієнт, результат лікування через 9 місяців після СТР в ділянці 35–36 зубів. Біотрансформація кераміки та заміщення її молодого кістковою тканиною, ретракція внаслідок розсмоктування колагенової мембрани*



*Пацієнтка Х., 1967 р.н., генералізований пародонтит, II ст., пародонтальні кишені в ділянці 14, 15 та 17, 18 зубів*

*Та ж пацієнтка, результат лікування на 18 місяць, заміщення кісткових кишень мінералізованою кісткою, з адекватною архітектонікою*

**Рис. 5.5.** Рентгенограми пацієнтів до та після хірургічного лікування

Результати остеометричного аналізу продемонстрували зменшення рентгенологічного рівня втрати прикріплення (рВП) на 28,6% в основній групі: рентгенологічно визначена глибина рВП до лікування складала  $9,17 \pm 0,31$  мм, а через 12 місяців після оперативного втручання –  $6,54 \pm 0,25$  мм. Подібні зміни також відмічались у контрольній групі, де рентгенологічна глибина рВП до лікування складала  $9,47 \pm 0,32$  мм, а через 12 місяців після хірургічного лікування –  $6,52 \pm 0,33$  мм, що вказувало на зменшення показника глибини на 31,2%.

Рентгенологічна глибина внутрішньокісткових кишень через рік після процесу загоєння при пластичному заміщенні запропонованою остеотропною композицією зменшилась на  $2,53 \pm 0,27$  мм та на  $2,85 \pm 0,33$  мм у кишенях пластично заміщених лише «Bio-Oss», що відповідно відображало ступінь ЗПК

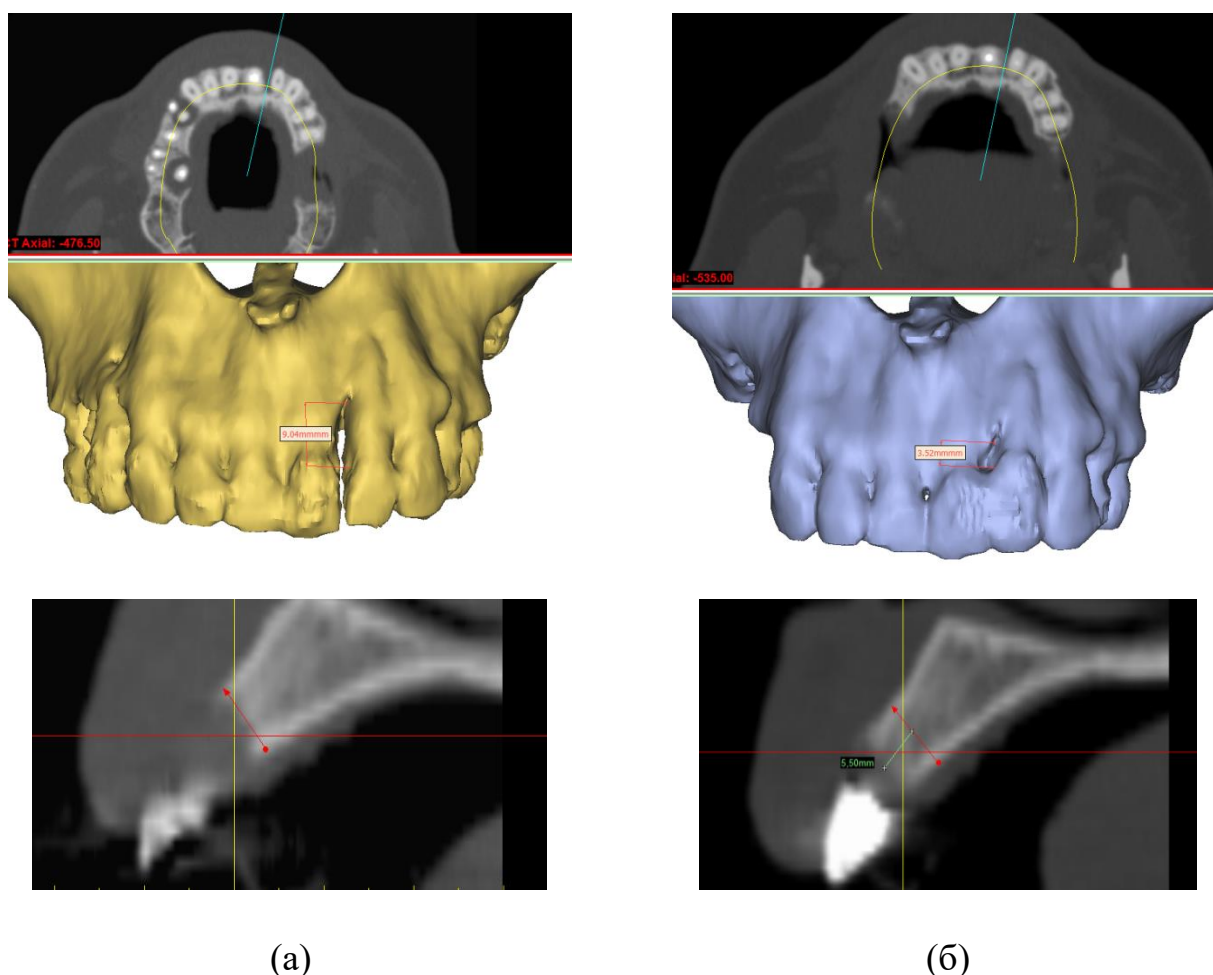
кістковою тканиною на 27,5% та 30,1% (табл. 5.6). При цьому відсоток заповнення власне внутрішньокісткового компонента (КЗ) кісткою в основній та контрольній групах був вище за ЗПК і складав 45,4% та 46,2% відповідно. Не визначалося суттєвої різниці між групами за параметрами величин заповнення пародонтальних кишень кістковою тканиною ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 5.6

**Рентгенологічні показники остеометрії глибини і відсотка заповнення пародонтальних кишень та внутрішньокісткового компонента через рік після хірургічного лікування**

	Основна група	Контрольна група	Значення показника р
Зниження рентгенологічної глибини дефекту на (мм, $M \pm m$ )	2,53 $\pm$ 0,27	2,85 $\pm$ 0,33	0,45
Відсоток кісткового заповнення (КЗ), %	45,4	46,2	
Відсоток заповнення пародонтальної кишені (ЗПК), %	27,5	30,1	

Результати остеометричного аналізу представлені на прикладі пацієнта З., 1969 р.н. з генералізованим пародонтитом, III ст., хронічного перебігу (амбулаторна карта хворого № 231, м. Київ) до та після хірургічного лікування з використанням запропонованої остеотропної композиції відображені на рис. 5.6.



**Рис. 5.6.** Інтерфейс комп'ютерної програми «SimPlant Pro», МСКТ. Сагітальний, аксіальний зрізи та тривимірні реконструкції верхньої щелепи пацієнта до (а) та після (б) хірургічного лікування через 12 місяців. Визначається утворення мінералізованої кісткової тканини у ділянці одностінної пародонтальної кишені між 21–22 зубами та заповнення внутрішньокісткового компонента кишені на 61% (в межах 5,5 мм).

За результатами денситометричного дослідження (табл. 5.7) у пацієнтів основної групи визначено достовірне підвищення щільності кісткової тканини альвеолярного відростка на 47,3% ( $p < 0,05$ ): до лікування щільність кісткової тканини становила у середньому  $723,2 \pm 41,1$  HU; після лікування з урахуванням щільності утвореного аугментату –  $1065,3 \pm 27,1$  HU. У контрольній групі подібна тенденція також спостерігалась: до лікування профіль щільності кісткової тканини у середньому складав  $671,1 \pm 37,8$  HU, а через дванадцять місяців після лікування –  $876,6 \pm 22,8$  HU, демонструючи істотне наростання

мінерального компонента кістки на 32,6% ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, визначено наростання профілю щільності кісткової тканини через рік після застосування обох остеопластичних комбінацій, порівняно з передопераційними даними. Що вказує на сприятливий вплив остеотропних матеріалів на оточуючі кісткову кишеню тканини, головним чином за рахунок мінерального компонента.

При використанні остеопластичних матеріалів за томографічного обстеження малюнок кісткової тканини ставав більш щільнішим та рівномірним. Спостерігали відмінності у вигляді ділянок де відбувались регенераторні процеси. У більшості випадків через 12 місяців після імплантації біокераміки кістковий малюнок нагадував природний, проте з незначною розмитістю рентгенологічного зображення. У той час як при застосуванні ксеногенного матеріалу – на фоні задовільної рентгенологічної архітектоніки кісткової тканини визначались незначні рентгенконтрастні включення. В обох клінічних групах зазначена рентгенологічна картина на КТ-зрізах скоріше за все відповідала мінералізованій остеоїдній тканині з недостатнім ступенем просторової організації.

Проте ступінь такої мінералізації в контрольній та основній групах був різний. Статистичний аналіз між групами пацієнтів продемонстрував перевагу у 21,7% профілю щільності відновленої кісткової тканини у групі з запропонованою остеотропною композицією, чим істотно відрізнявся від подібного показника в контрольних ділянках ( $p < 0,05$ ).



Таблиця 5.7

**Показники рентгенологічної денситометрії кістки міжкоміркових  
перегородок досліджуваних ділянок ( $M \pm m$ , NU)**

Група	До оперативного лікування (ВП)	Після оперативного лікування			Парний t-тест, p
		На 12 місяць	Max	Min	ВП-12 місяців
Основна група (n=27)	723,2±41,1	1065,3±27,1	1286,7	762,9	p<0,05
Контрольна група (n=29)	671,1±37,8	876,6±22,8	1166,5	625,6	p<0,05
Непарний t-тест, p	p>0,05	p<0,05			

**Висновок.** Використані для спрямованої тканинної регенерації остеопластичні матеріали у всіх групах пацієнтів призводили до істотного клінічного та рентгенологічного покращення стану пародонта. Через рік після хірургічного лікування визначено практично однакове ( $p > 0,05$ ) зниження глибини пародонтальних кишень на 53,5% в основній групі та на 45,7% у контрольній групі; зменшення рівня втрати прикріплення на 30,4% в основній та на 28,0% в контрольній групі ( $p > 0,05$ ); заповнення пародонтальних кишень кістковою тканиною на 27,5% (основна група) і 30,1 % (контрольна група), без істотних переваг між групами ( $p > 0,05$ ). Проте з перевагою у зростанні щільності кісткової тканини в ділянках де було імплантовано запропоновану остеотропну композицію ( $p < 0,05$ ). В основній групі профіль щільності тканин після пластики зріс до 1065,3±27,1 NU (на 47,3% відносно значення до лікування), а у контрольній – до 876,6±22,8 NU (на 30,6% відносно початкового рівня). При цьому індекс GI, що визначав запальні зміни ясен в операційних

ділянках, у основній групі був достовірно нижче ніж у контрольній групі ( $p < 0,05$ ), як на третій, так і на дванадцятий місяць спостереження. У разі застосування ксеногенного матеріалу «Bio-Oss» за СТР такі зміни тканин в післяопераційних ділянках через рік були більш виражені, чим на нашу думку пояснюється істотне зниження досягнутих результатів рівня клінічного прикріплення та глибини кишень порівняно з результатом на 3-й місяць ( $p < 0,05$ ). На противагу, у основній групі характер змін тканин пародонта через 6 та 12 місяців не був суттєвим ( $p > 0,05$ ). Однак у ці терміни в обох групах, без достовірних відмінностей, визначалися (див. табл. 5.5) ознаки збільшення рівня рецесії у середньому на 0,5–2,0 мм, що можна пояснити певною рубцевою ретракцією тканин після операції.

Кожен з методів хірургічного лікування був застосований виходячи з принципів оптимального формування медико-хірургічного алгоритму виконання оперативного втручання і післяопераційного ведення хворого.

Проведений аналіз лікування у пацієнтів основної групи з використанням запропонованої остеотропної композиції у комплексній терапії генералізованого пародонтиту показав добрі ранні та віддалені клініко-рентгенологічні результати, що не поступаються результатам лікування з більш високовартісними остеопластичними матеріалами.

Використання запропонованого способу хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит слід вважати патогенетично виправданим, спрямованим на підвищення ефективності хірургічних методик з репаративної регенерації тканин пародонта шляхом одночасного запобігання апікальної міграції епітелію, остеостимулювальної дії та пролонгованого антибактеріального впливу, за рахунок тривалої біорезорбції керамічного композита. Він сприяє кращому перебігу післяопераційного періоду, профілактиці післяопераційних ускладнень, зниженню дискомфорту та больових відчуттів для пацієнтів, підвищенню щільності кісткової тканини, сприятливо діє на стан оточуючих тканин пародонта. Після проведеного лікування тривалий час спостерігається стадія стабілізації патологічного процесу в оперованих ділянках пародонта.

Впровадження запропонованого нами способу хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит II та III ступеня дозволяє досягти сприятливих результатів лікування. Тому ми вважаємо перспективним використання запропонованого методу в системі практичної охорони здоров'я.

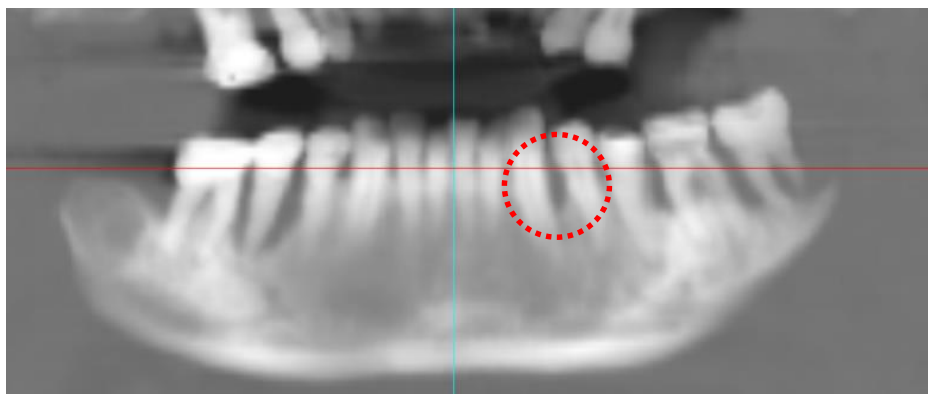
Отримані сприятливі клінічні результати лікування підтверджуються наступними витягами з історії хвороби пацієнтів.

**Приклад № 1.** Витяг із амбулаторної карти хворого № 159 К., 1967 р.н., м. Київ.

21.12.2013 р. пацієнт К. звернувся до стоматологічного центру зі скаргами на неприємний запах з ротової порожнини, відчуття дискомфорту, свербіжі кровоточивість ясен у ділянці 33–37 зубів. Спостерігається у лікаря-кардіолога з приводу гіпертонічної хвороби. Протягом останніх двох років нерегулярно відвідував стоматолога для проведення лише гігієнічних процедур, що давало лише короткотривале полегшення. З часом симптоми почали наростати. Пацієнту було рекомендовано комплексне лікування, планування та проведення клаптевої операції в ділянці зазначених зубів.

Об'єктивно: визначається помірний набряк і застійна гіперемія ясен, особливо виражена в ділянці 33, 36, 45 зубів. Біля 33–37 та 45 зубів відмічаються глибокі пародонтальні кишень (>6–7 мм) з серозним виділення, помірна кровоточивість ясен, рясні над'ясенні та під'ясенні зубні відкладення. Індекс ОНІ-S = 2,2 бали, РМА у модифікації Parma = 47%, РВІ = 3,2 бали. Визначається патологічна рухомість цих зубів I–II ступеня за Ентіним. На ортопантограммі – нерівномірна резорбція міжкоміркових перегородок в межах 2/3–1/2 довжини коренів зубів, деструкція замикальних компактних пластинок, утворення вертикальних кісткових кишень та явища остеопорозу (рис. 5.7).

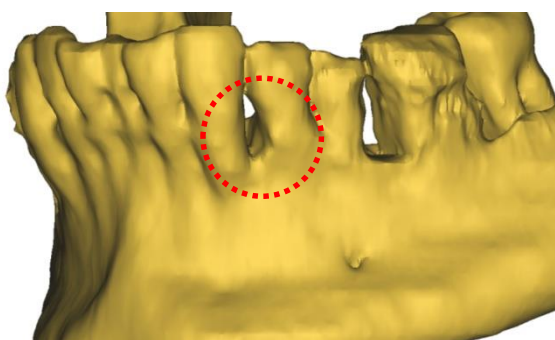
Діагноз: генералізований пародонтит, III ст., хронічний перебіг.



*Рис. 5.7. МСКТ. Ортопантограмма пацієнта К. до лікування (панорамний зріз КТ – інструменти програми «SimPlant Pro»). Глибокі внутрішньокісткові пародонтальні кишені у ділянці 46, 45, 33, 35–37 зубів.*

Проведено ретельне видалення над'ясенних і під'ясенних зубних відкладень, вибіркоче пришліфовування зубів, корекція реставраційних конструкцій та місцевих подразнюючих чинників. Здійснений підбір засобів індивідуальної гігієни та контроль за її дотриманням. Загальне лікування корегувалось з призначеннями лікаря-кардіолога. Успішне виконання першої фази комплексного пародонтологічного лікування дозволило значно зменшити індексні показники запалення тканин пародонта і створити оптимальні умови для проведення хірургічної фази лікування.

17.02.2014 р. Для оцінки топографії пародонтальних кишень та їх характеристик пацієнту здійснено комп'ютерно-томографічне дослідження з побудовою тривимірної моделі (рис. 5.8).



*Рис. 5.8. МСКТ. Тривимірна реконструкція нижньої щелепи пацієнта К., з візуалізацією просторової топографії кісткових кишень у ділянці 33–37 зубів.*

22.02.2014 р. Під місцевою анестезією проведена гінгівоостеопластика в ділянці 33–37 зубів зі застосуванням методики спрямованої тканинної регенерації в ділянці 33 зуба. Сформовані та відшаровані слизово-окістні клапті, скейлінг під'ясної поверхні коренів зубів, біомехічна обробка поверхні коренів 24% розчином ЕДТА «PrefGel». Рівень втрати прикріплення (9 мм) та глибина кісткової кишені (6,5 мм) в ділянці 33 зуба співставленні з даними рентгенологічного дослідження (рис. 5.9, а). Внутрішньокісткові кишені заповненні остеотропною композицією в межах контурів альвеолярного відростку (рис. 5.9, б) та перекритті колагеновою бар'єрною мембраною «Bio-Gide» в ділянці 33 зуба. Клапті мобілізовані та укладені на місце, операційна рана ушита нейлоновою лігатурою.



(a)



(б)

*Рис. 5.9. Інтраопераційна фотографія. Рівень втрати клінічного прикріплення – 9 мм (а), заповнення кісткової пародонтальної кишені остеотропною композицією у межах контурів альвеолярного відростка перед розміщенням бар'єрної мембрани.*

27.02.2014 р. Хворий не пред'являє скарг. Загоєння післяопераційної рани без особливостей. Шви збережені. Відмічено помірний набряк, гіперемія та кровоточивість ясен при зондуванні, тонкий фібриновий випіт над лінію швів. Антисептична обробка поверхні рани 0,05% розчином хлоргексидину біглюконату.

4.03.2014 р. Скарг у хворого немає. Рана чиста, при пальпації безболісна. набряк тканин відсутній, визначено незначну гіперемію та кровоточивість ясен. Медикаментозна обробка антисептичним розчином. Зняття швів.

29.05.2014 р. Контрольний огляд пацієнта через 3 місяці після оперативного лікування. Скарг не пред'являє. Відсутність рухомості 33–37 зубів. Ясна блідо-рожевого кольору та помірно пастозні, безболісні, незначно кровоточать при зондуванні (рис. 5.10). Спостерігається відновлення контуру маргінальної частини ясен. В ділянці 33 зубу глибина пародонтальної кишені 2 мм, рівень рецесії 1,5 мм. Відсутність зубних відкладень, пацієнт дотримується раціональної індивідуальної гігієни.



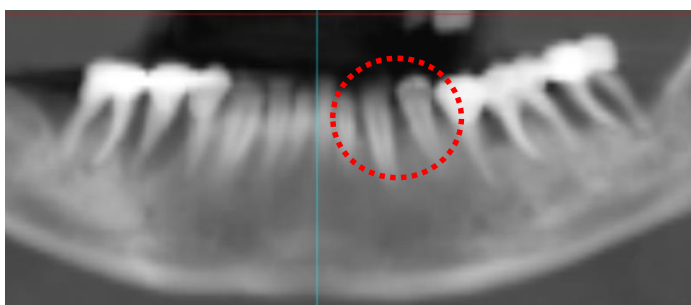
*Рис. 5.10. Клінічний результат на третій місяць в ділянці 33–35 зубів. Початок відновлення контуру маргінальної частини ясен, усунення пародонтальної кишені, незначна кровоточивість післяопераційної ділянки.*

30.08.2014 р. Контрольний огляд пацієнта через 6 місяці після оперативного лікування. Скарг не пред'являє. Відсутність рухомості 33–37 зубів. Ясна блідо-рожевого кольору, щільні, безболісні, при зондуванні не кровоточать (рис. 5.11). Відновлення контуру маргінальної частини ясен. У ділянці 33 зуба глибина пародонтальної кишені 2–2,5 мм, рівень рецесії 1,5 мм. Незначні зубні відкладення, пацієнт у цілому дотримується індивідуальної гігієни. Посилення гігієнічних заходів.

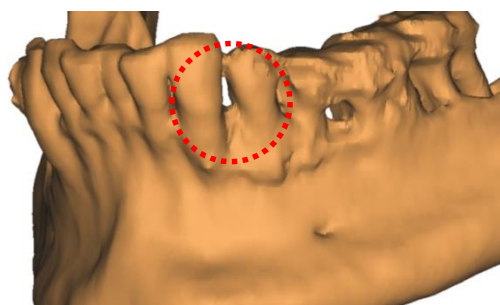


*Рис. 5.11. Клінічний результат на шостий місяць в ділянці 33–35 зубів. Відновлення контуру маргінальної частини ясен, рівень втрати прикріплення – 4 мм, рецесія у межах 2-х мм.*

24.02.2015 р. Контрольний огляд пацієнта через 12 місяців після оперативного лікування. Скарг не пред'являє. Відсутність патологічної рухомості 33–37 зубів. Ясна блідо-рожевого кольору, щільні, безболісні, при зондуванні не кровоточать. Відновлення контуру маргінальної частини ясен. У ділянці 33 зубу глибина пародонтальної кишені 2,5–3 мм, рівень рецесії 1,5–2 мм. Незначні зубні відкладення в ділянці післяопераційної рани, пацієнт у цілому дотримується індивідуальної гігієни. Контрольне рентгенографічне МСКТ обстеження з побудовою тривимірної моделі (рис. 5.12) засвідчило відновлення кісткової тканини в ділянці 33–36 зубів.



(a)



(б)

*Рис. 5.12. МСКТ. Панорамний зріз (а) та тривимірна реконструкція (б) нижньої щелепи пацієнта З. через рік після хірургічного втручання. Рентгенографічні результати лікування, ознаки відновлення кісткової тканини міжкоміркових перегородок у ділянці 33–36 зубів.*

**Приклад № 2.** Витяг із амбулаторної карти хворої № 239 С., 1977 р.н., м. Київ.

11.11.2013 р. пацієнтка С. звернулася до стоматологічного центру зі скаргами на відчуття дискомфорту, свербіж і кровоточивість ясен у ділянці 16–17 зубів, галітоз, періодично функціонуюча нориця в ділянці верхівки коренів 16 зубу. Зазначені скарги посилювалися після пломбування 17 зубу. Протягом останнього року стоматолога не відвідувала.

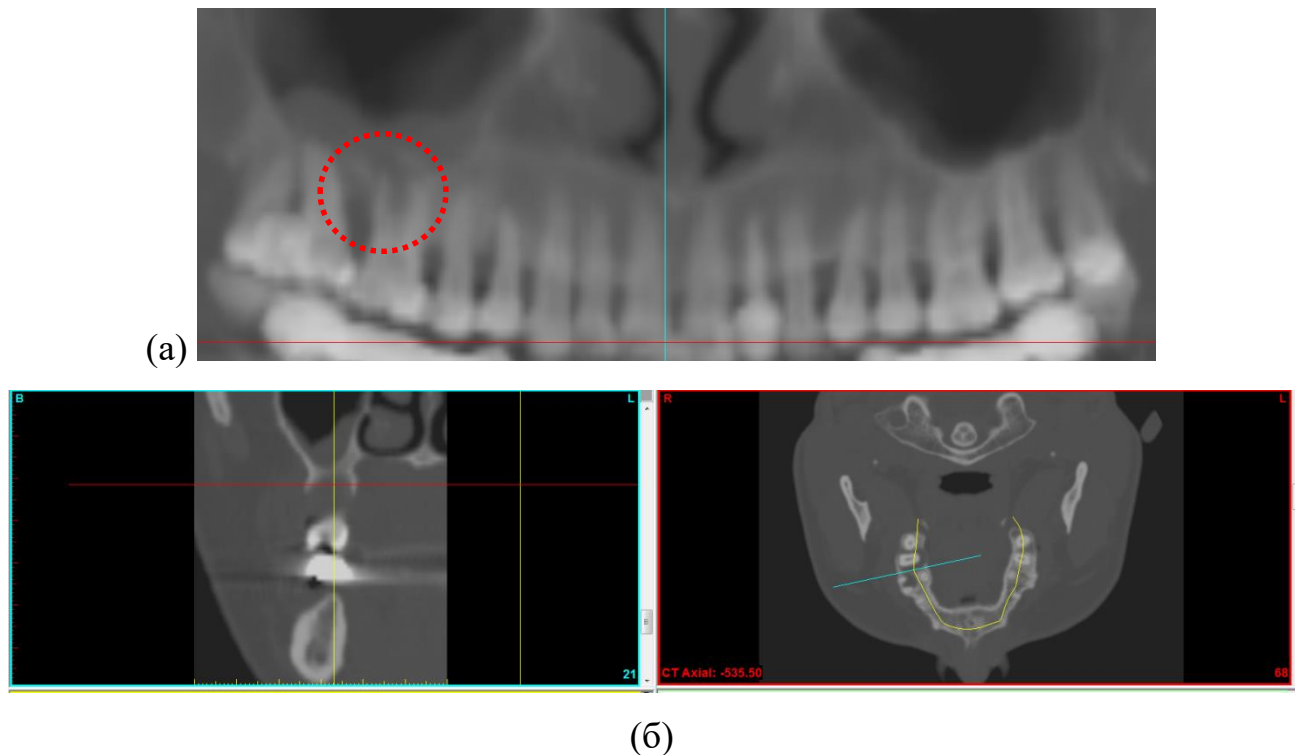
Об'єктивно: визначається помірний набряк і застійна гіперемія ясен, виражена в ділянці 16–17 та 14–15 зубів. Де діагностовано глибокі пародонтальні кишень (>6–7 мм) з серозним виділенням, помірна кровоточивість ясен, під'ясенні зубні відкладення. Індекс ОНІ-S = 1,8 бали, РМА у модифікації Рагма = 36%, РВІ = 2,9 бали. Визначається патологічна рухомість цих зубів I–II ступеня за Ентіним. При рентгенологічному дослідженні – нерівномірна резорбція міжкоміркових перегородок у межах 1/2 довжини коренів зубів, деструкція замикальних компактних пластинок, утворення вертикальних кісткових кишень та явища остеопорозу (рис. 5.13, а), ділянка розрідження кісткової тканини округлої форми біля дистально-щічного кореня 16 зубу.

Діагноз: генералізований пародонтит, II ст., хронічний перебіг; хронічний гранулематозний періодонтит 16 зубу.

Проведено ретельне видалення над'ясенних і під'ясенних зубних відкладень, вибіркоче пришліфовування зубів, корекція реставраційних конструкцій та місцевих подразнюючих чинників, заміна пломби в 17 зубі, тимчасове шинування композиційною адгезивною шиною. Ендодонтичне лікування 16, 17 зубів. Здійснений підбір засобів індивідуальної гігієни та контроль за її дотриманням.

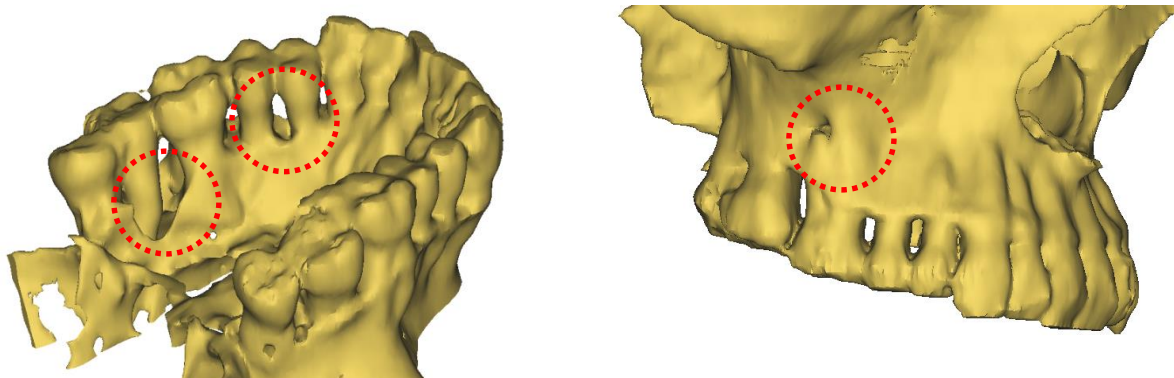
18.11.2013 р. Для оцінки топографії пародонтальних кишень та їх характеристик пацієнтці виконано комп'ютерно-томографічне дослідження з побудовою інтерактивної тривимірної моделі (рис. 5.14).





**Рис. 5.13.** МСКТ. Ортопантограма пацієнтки С. (а) до лікування (панорамний зріз КТ) та візуалізація внутрішньокісткової пародонтальної кишені у ділянці 16 зуба, реактивні зміни слизової оболонки верхньощелепного синусу (б).

22.11.2013 р. Під місцевою анестезією проведена гінгівоостеопластика в ділянці 14–17 зубів зі застосуванням методики спрямованої тканинної регенерації в ділянці 17 зуба. Сформовані та відшаровані слизово-окістні клапті, скейлінг під'ясної поверхні коренів зубів, біомехічна обробка поверхні коренів 24% розчином ЕДТА «PrefGel». У ділянці 17 зуба рівень втрати прикріплення (10 мм) та глибина кісткової кишені (7,5 мм) співставленні з даними рентгенологічного дослідження. Внутрішньокісткові кишені заповненні остеотропною композицією в межах контурів альвеолярного відростку та перекритті колагеновою бар'єрною мембраною «Bio-Gide» в ділянці 17 зуба зі сторони піднебіння. Гранулемектомія та апіксоектомія дистально-щічного кореня 16 зуба, з подальшою пластикою кісткового дефекту остеотропною композицією. Клапті мобілізовані та укладені на місце, операційна рана ушита нейлоновою лігатурою.



*Рис. 5.14. МСКТ. Тривимірна реконструкція верхньої щелепи пацієнтки С., з візуалізацією просторової топографії кісткових кишень у ділянці 14–17 зубів (вид зі щічної сторони та піднебіння).*

28.11.2013 р. Хвора не пред'являє скарг. Загоєння післяопераційної рани без особливостей. Шви збережені. Відмічено помірний набряк, гіперемія та кровоточивість ясен при зондуванні, тонкий фібриновий випіт над лінію швів. Антисептична обробка поверхні рани 0,05% розчином хлоргексидину біглюконату.

2.12.2013 р. Хвора скарг не пред'являє. Рана чиста, при пальпації безболісна. Набряк тканин відсутній, визначається незначна гіперемія та кровоточивість ясен. Медикаментозна обробка антисептичним розчином. Зняття швів.

10.02.2014 р. Контрольний огляд через 3 місяці після оперативного лікування. Скарг немає. Ясна блідо-рожевого кольору, безболісні при пальпації. Спостерігається відновлення контуру маргінальної частини ясен. У ділянці 17 зубу глибина пародонтальної кишені 3 мм, рівень рецесії 2 мм. Відсутність зубних відкладень.

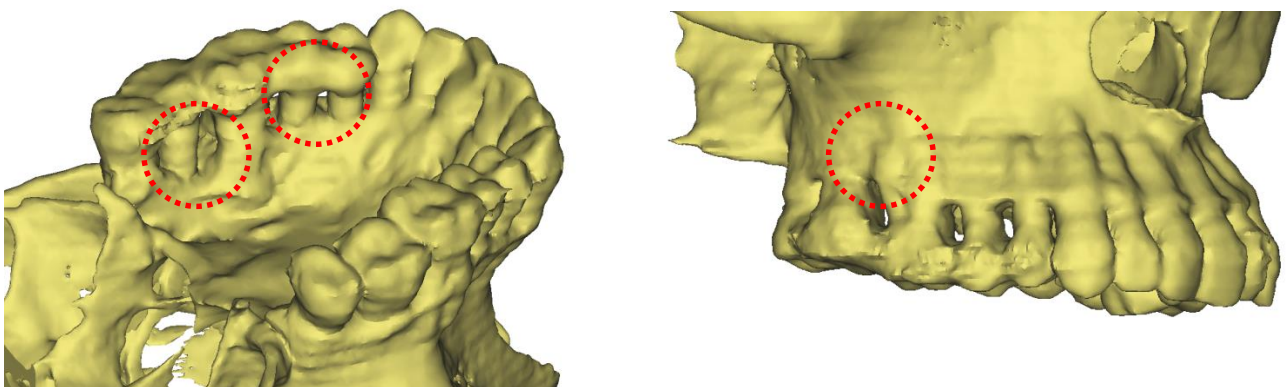
30.05.2014 р. Контрольний огляд пацієнтки через 6 місяці після оперативного лікування. Скарг не пред'являє. Ясна блідо рожевого кольору, щільні, безболісні, при зондуванні не кровоточать. Відновлення контуру маргінальної частини ясен. В ділянці 17 зуба з піднебінної сторони глибина пародонтальної кишені 2–2,5 мм, рівень рецесії 1,5 мм. Пацієнтка дотримується індивідуальної гігієни.

9.12.2015 р. Контрольний огляд пацієнта через 12 місяців після оперативного лікування. Скарг не пред'являє. Відсутність патологічної рухомості 14–17 зубів. Ясна блідо-рожевого кольору, щільні, безболісні, при зондуванні не кровоточать (рис. 5.15). Відновлення контуру маргінальної частини ясен. У ділянці 17 зубу глибина пародонтальної кишені 1,5–2 мм, рівень рецесії 1–2 мм. Зубні відкладення в ділянці післяопераційної рани відсутні, пацієнтка дотримується індивідуальної гігієни.

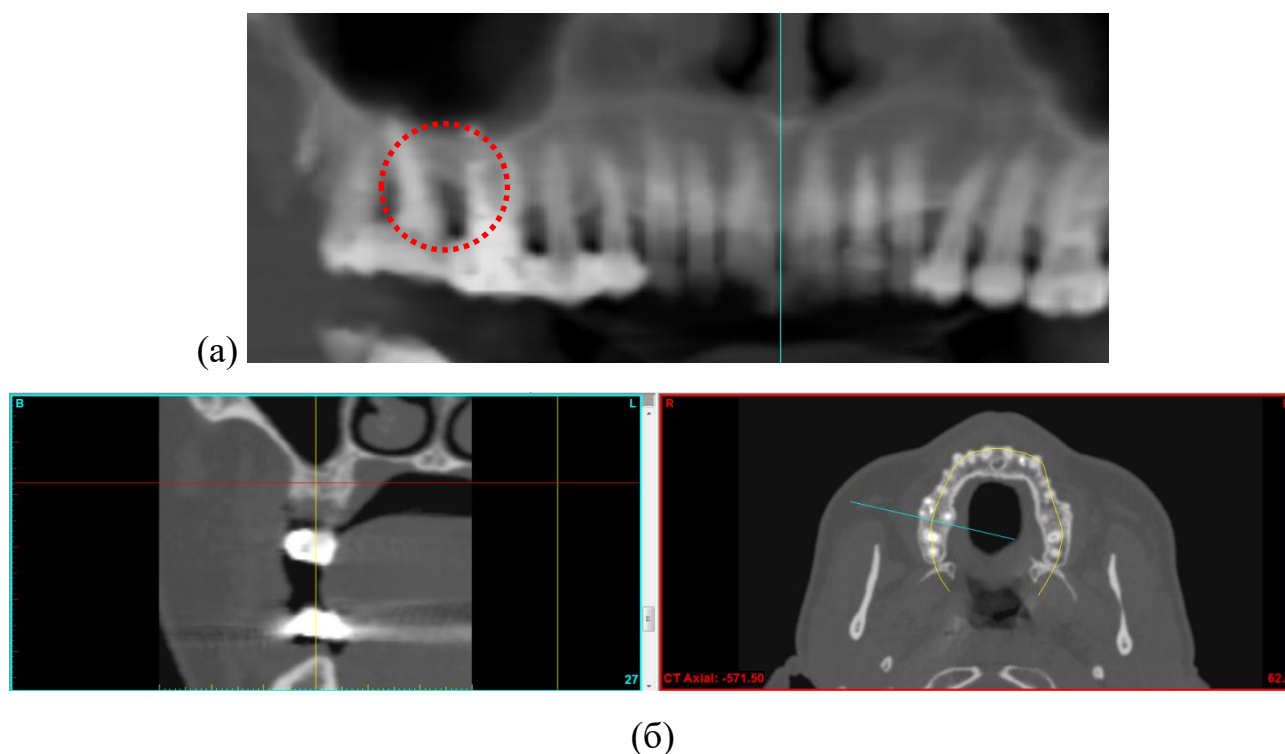


*Рис. 5.15.* Клінічний результат у ділянці 14–16 зубів через 12 місяців. Відновлення контуру маргінальної частини ясен, рівень втрати прикріплення – 3 мм, рецесія в межах 1–2 мм. Відсутність запальних явищ тканин пародонта.

Контрольне рентгенографічне МСКТ обстеження з побудовою тривимірної моделі (рис. 5.16, 5.17) засвідчило відновлення кісткової тканини в ділянці 14–17 зубів.



*Рис. 5.16.* МСКТ. Тривимірна реконструкція верхньої щелепи пацієнтки С. через рік після хірургічного втручання. Рентгенографічні результати хірургічного лікування, ознаки відновлення кісткової тканини періапикальної ділянки 16 зуба та міжкоміркових перегородок 14–17 зубів.



*Рис. 5.17. МСКТ. Панорамний (а), аксіальний та вертикальний (б) зріз верхньої щелепи пацієнтки С. через рік після хірургічного втручання. Рентгенографічні результати лікування, ознаки відновлення кісткової тканини міжкоміркової перегородки у ділянці 16–17 зубів.*

Результати даного розділу опубліковані в наступних наукових працях автора:

The biological properties of the silver- and copper-doped ceramic biomaterial [Електронний ресурс] / О. Lysenko, О. Dubok, А. Borysenko, О. Shinkaruk // J. Nanopart. Res. – 2015. – Vol. 17, № 4. – Р. 1-15. – Режим доступу : <http://link.springer.com/article/10.1007/s11051-015-2971-z>.

## РОЗДІЛ 6

### УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналіз даних літератури та клінічна практика вказують, що незважаючи на успіхи лікування стоматологічних захворювань, проблема хвороб пародонта є однією з найважливіших у сучасній стоматології. Значна розповсюдженість генералізованого пародонтиту спонукає до необхідності розробки нових, оптимізованих методів лікування цього захворювання.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню актуального питання стоматології – підвищення ефективності хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит шляхом удосконалення методики спрямованої тканинної регенерації.

Головною метою лікування хворих на генералізований пародонтит є пригнічення патологічного процесу в м'яких тканинах і кісткових структурах пародонта, а також усунення пародонтальних кишень. З цією метою зі змінним успіхом використовують широкий арсенал сучасних хірургічних методів лікування спрямованих на досягнення регенерації тканин пародонта: відновлення кісткової тканини, ремоделювання цемента зуба та отримання нового рівня клінічного прикріплення. Цього досягають шляхом використання при хірургічних операціях спеціальних засобів, що впливають на перебіг репаративного остеогенезу, – остеопластичних матеріалів.

Найчастіше у вітчизняній пародонтологічній практиці використовують ксеногенні та синтетичні остеопластичні матеріали: на основі керамік – гідроксиапатитної та трикальційфосфатної або різних колагеновмісних комбінованих матеріалів. Найбільш ефективним є їх застосування у методиці спрямованої тканинної регенерації.

Біоактивні ситали характеризуються здатністю до контактного пригнічення епітеліальної проліферації та остеостимулювальною дією (реалізація впливу активних іонів кремнію, кальцію, фосфору) та певною антибактеріальною активністю. Остання є досить важливою умовою, оскільки при використанні методу спрямованої тканинної регенерації мікробна

колонізація остеопластичного матеріалу та бар'єрної біомембрани має суттєвий вплив на клінічний результат лікування.

Сьогодні в Україні представлені остеопластичні матеріали з антибактеріальними агентами переважно зарубіжних виробників. Таким чином, існує нагальна потреба розробки та дослідження нових вітчизняних універсальних остеопластичних матеріалів для потреб хірургічного лікування генералізованого пародонтиту з наданими антибактеріальними властивостями відносно умовно патогенної мікрофлори пародонтальних кишень.

Враховуючи це, нами запропонована нова остеотропна композиція на основі модифікованої наноструктурованої біоактивної кераміки «Синтекість» (ТОВ «Промтехрезерв», Україна; свідоцтво про державну реєстрацію № 3653/2005; Патент України на корисну модель: О.С. Лисенко, О.В. Дубок, О.В. Шинкарук. Керамічний наноконкомпозит для пластики дефектів кісткової тканини з мультифункціональними властивостями, № 96873, від 25.02.2015 року), легованої іонами срібла та міді як антимікробні агенти, остеостимулювальна функція якої посилена препаратом «Алфлутоп» (Biotechnos S.A., Румунія, свідоцтво про державну реєстрацію № UA/6889/01/01). Її готували *ex tempore* шляхом змішування окремих компонентів.

«Алфлутоп» містить значну кількість речовин, які позитивно впливають на перебіг різних обмінних процесів. Це глікозаміноглікани (гіалуронова кислота, хондроїтинсульфат), протеоглікани, амінокислоти, сполуки гліцерофосфоліпідів; мінеральні компоненти: солі натрію, калію, кальцію, магнію, заліза, міді та цинку. Він пригнічує активність гіалуронідази та інших ферментів, які здатні руйнувати матрикс основної речовини сполучної тканини. Компоненти, що входять до складу «Алфлутопу» здатні безпосередньо заміщати глікозаміноглікани пошкодженої тканини, стимулювати біосинтез гіалуронової кислоти та колагену, пригнічувати біосинтез медіаторів запалення. Окрім того препарат має антиоксидантну дію за рахунок стимуляції активності супероксиддисмутази і пригнічення синтезу ліпідів.

Для клінічного застосування запропонованої остеотропної композиції нами розроблений спосіб хірургічного лікування внутрішньокісткових

пародонтальних кишень у хворих на генералізований пародонтит (Патент України на корисну модель: О.С. Лисенко, А.В. Борисенко. Спосіб хірургічного лікування внутрішньокісткових пародонтальних кишень у хворих на пародонтит, № 99721, від 25.06.2015 року).

Методами рентгенодифракційного аналізу та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії підтверджено, що синтезовані зразки біфазної кальцій-фосфатної кераміки при розкладанні нестехіометричного гідроксиапатиту мають рівномірне розподілення фаз ГАП та  $\beta$ -ТКФ (приблизно 50:50) без утворення сторонніх фаз. Енергія зв'язку для всіх елементів у досліджуваних зразках дозволяє визначити присутність саме іонних форм срібла ( $\text{Ag}^+$ ) та міді ( $\text{Cu}^{2+}$ ). Атомно-емісійна спектроскопія зразків БКС показала незначне відхилення легуючих домішок від номінальної кількості, не виявила присутності негативних елементів. Трансмісійна електронна мікроскопія досліджуваних зразків підтвердила неоднорідну морфологію частинок, що є типовим для багатофазних композитів зі збереженням нанорозмірності кристалів у  $15\text{-}30 \times 40\text{-}150$  нм до та після спікання. Поверхнева структура БКС мікропориста та достатньо шорстка для фіксації остеогенних клітин.

Проведеними мікробіологічними дослідженнями встановлено, що додаткове легування БКС сріблом і міддю надає їй антибактеріальної та протигрибкової активності. Вираженість якої залежить від виду мікроорганізму, концентрації і типу легуючих додатків, кількості гранул композиту та їх розміру.

Антимікробні властивості посилюються зі зростанням концентрації іонів срібла та міді. Наприклад, тест штаму *E. coli* продемонстрував найбільшу чутливість до легованих зразків БКС, навіть у концентрації 0,1 ат.% срібла та 0,05 ат.% міді. Найбільш резистентним виявився штаму *S. aureus*. Зразки керамічного композиту леговані 10 ат. % срібла та 5 ат.% міді максимально затримували ріст тестових штамів, особливо *P. aeruginosa* та *C. albicans*. Не виявлено антибактеріальної активності у біокераміка без легуючих додатків.

Клінічні мікробіологічні дослідження показали, що морфологічний склад

мікрофлори пародонтальних кишень був приблизно однаковим у всіх хворих групи обстеження. Так, при бактеріоскопії суспензії змішаної мікрофлори виявлено досить типову умовно-патогенну мікрофлору пародонтальних кишень. Мікроорганізми ідентифікували за різними тинкторіальними та морфологічними ознаками: стрептококи, стафілококи, диплококи та грампозитивні палички (актиноміцети), спірили тощо.

При вивченні впливу легованої біокераміки на змішану мікрофлору пародонтальних кишень було встановлено, що найбільшу зону затримки росту змішаної мікрофлори демонстрував 5-й зразок БКС з вмістом 10 ат.% срібла та 5 ат.% міді. У зразках з меншими концентраціями іонів срібла та міді (БКС: 2, 3, 4) чутливість мікроорганізмів істотно не відрізнялась ( $p > 0,05$ ), порівняно зі зразком більшої концентрації. Вона відповідала незначній і помірно вираженій антибактеріальній дії. А зразок БКС з найбільшою концентрацією іонів срібла та міді достовірно відрізнявся від 4-го зразка БКС ( $p < 0,05$ ).

Біокераміка без легуючих добавок у жодному випадку не затримувала росту клінічно виділених культур мікроорганізмів.

При співставленні антибактеріальних властивостей зразків матеріалів груп порівняння, найбільш активним виявився «Біопласт-Дент» з лінкоміцином. Зона затримки росту змішаної мікрофлори була максимальною і складала  $32,57 \pm 2,35$  мм, що відповідало вираженій антибактеріальній дії. Біокомпозит «Синтекість» (на прикладі 3-го зразка БКС) поступався вказаній антибактеріальній активності приблизно у 2 рази. Найменш активним виявився зразок «Біопласт-Дент», що в складі має комбінацію хлоргексидину з метронідазолом. Чутливість клінічно виділеної змішаної флори до цього зразка була мінімальною, а протимікробна дія визначалася як незначна, хоча істотно відрізнялася ( $p < 0,05$ ) від 6-го зразка БКС, з найменшою концентрацією БКС: 0,1 ат.% срібла та 0,05 ат.% міді. Отже, з матеріалів контрольної групи найбільш активним відносно змішаної мікрофлори був «Біопласт-Дент» з лінкоміцином. «Біопласт-Дент» з хлоргексидином і метронідазолом був майже неактивний відносно вказаної мікрофлори.

Бактеріостатичний та бактерицидний ефекти зразків БКС насичених



іонами срібла та міді досліджених мікрометодом серійний розведень, також мали концентраційно-залежний зв'язок від кількості легуючих домішок.

Таким чином, модифікований БКС з концентрацією іонів 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді і більше проявляв бактеріостатичний ефект по відношенню до змішаної пародонтальної мікрофлори. А біокераміка, насичена іонами у концентрації починаючи з 2 ат.% срібла та 1 ат.% міді, що відповідає зразкам БКС 4 та 5, проявила ще і бактерицидну дію. БКС нелегована та з мінімальною концентрацією іонів (зразок БКС 6) не демонстрував жодного з ефектів.

Дослідження цитотоксичності синтезованих зразків продемонструвало, що в контрольній групі 1 (за відсутності гранул біокераміки) на третю добу культивування кількість клітин у культурі збільшувалась майже в 1,5 рази.

Керамічний композит без іонів срібла та міді (контрольна група 2) не володів цитотоксичними властивостями – істотно не пригнічував ні адгезію, ні проліферацію мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (ММСК-ЖТ). При цьому, дифузія в ростове середовище його компонентів не впливала на зміну рН та створення інших неадекватних умов інкубації. Ні один зі зразків БКС не змінював фізіологічного значення рН ростового середовища протягом доби інкубації.

Кераміка, залежно від концентрації іонів срібла та міді, проявляла різні цитотоксичні властивості за непрямого та прямого методу визначення.

За непрямого тесту визначення цитотоксичності досліджувані зразки БКС не впливали негативно на вітальність і проліферацію клітин. Екстракти зразків гранул біокераміки, легованих в межах 2 ат.% срібла та 1 ат.% міді (БКС 4) не призводили до загибелі клітин на 3-тю добу культивування.

При прямому тесті цитотоксична дія модифікованої кераміки при її безпосередньому контакті з клітинами зростала, звужуючи цитосумісний діапазон концентрації іонів срібла та міді. В межах концентрації в 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді гранули кераміки (БКС 2) не перешкождали життєдіяльності клітин у культурах, проте, і не стимулювали їхню проліферацію.

Отримані дані підтверджують відсутність цитотоксичних впливів іонів

срібла та міді в складі кераміки на клітини людського організму зі збереженням антибактеріальної дії, лише за незначної концентрації цих легуючих агентів. Оптимальною виявилася концентрація іонів срібла та міді в біокераміці, синтезованої запропонованим методом, в межах 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді.

Для визначення остеостимулювальної дії запропонованої композиції легованої біокераміки та препаратом «Алфлутоп» були проведені експериментальні дослідження на тваринах з моделюванням дірчастого дефекту кістки нижньої щелепи.

Біохімічними дослідженнями було показано, що застосування запропонованої композиції на основі біокераміки сприяло збільшенню активності фосфатаз на 10 добу, у першу чергу за рахунок ЛФ. Імплантація запропонованих композицій, у тому числі з керамікою леговою іонами срібла та міді покращувала репаративні можливості кісткової тканини. Збільшувалась активність фосфатаз, знижувалась загальна протеолітична активність у більшості випадків до рівня норми. На 30 добу експерименту відбувалась повна нормалізація біохімічних показників кісткового обміну, зі збереженням високого індексу мінералізації. А суттєво знижений коефіцієнт Са/Біл., який повертався до норми під дією зразків кераміки уже на 10-й день, на 30-й день під дією БКС 3, навіть, дещо перевищував норму.

Гістологічні дослідження продемонстрували наявність на 30-й день ознак репаративної регенерації кістки. Ділянки з достатньо сформованою кістковою тканиною чергувались з добре васкуляризованою остеоїдною тканиною. Збільшувалась кількість остеобластів, остеоцити були розміщені рівномірно та оточені значною кількістю міжклітинної речовини. Явища запального характеру були відсутні.

Таким чином, проведені нами експериментальні дослідження засвідчили властивість біоактивної кераміки, у тому числі легової іонами срібла та міді, стимулювати процеси остеогенезу кістки щелепи.

У контрольній групі тварин був використаний препарат порівняння – ксеногенний матеріал «Bio-Oss». Отримані біохімічні та морфологічні

показники репарації експериментального дефекту кістки не мали суттєвих якісних і кількісних відмінностей від запропонованої нами остеотропної композиції.

Запропонована та розроблена остеотропна композиція на основі модифікованого біоактивного керамічного композиту «Синтекість» у поєднанні з препаратом «Алфлутоп» була клінічно апробована у клініці кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Її застосовували, як остеокондуктивний матеріал, з метою стимуляції репаративної регенерації тканин пародонта при клаптевих операціях.

Клінічну групу склали 47 пацієнтів (28 чоловіків і 19 жінок), середній вік  $43,2 \pm 1,7$  років з діагнозом генералізованого пародонтиту, II і III ступеня, хронічного та загостреного перебігу. Після закінчення першої фази лікування їм були здійснені хірургічні втручання на тканинах пародонта в обраних ділянках з глибокими пародонтальними кишнями у межах 5–11 мм з використанням техніки СТР.

Усі хворі були сліпо рандомізовані у дві клінічні групи. У першій (основній) були використані остеотропна композиція на основі легованої біокераміки (гранули 0,3–0,5 мм) іонами срібла та міді та пародонтологічна мембрана «Bio-Gide» (Geistlich Pharma AG, Швейцарія, свідоцтво про державну реєстрацію № 6045/2007). У другій (контрольній) – та ж бар'єрна мембрана та ксеногенний остеопластичний матеріал «Bio-Oss» з величиною гранул 0,25–1 мм (Geistlich Pharma AG, Швейцарія, свідоцтво про державну реєстрацію № 6046/2007).

Ретроспективно у терміни спостереження 3, 6 та 12 місяців після оперативного втручання у всіх хворих груп порівняння визначали клінічні та рентгенологічні показники стану тканин пародонта. Визначали динаміку змін глибини зондування і втрати клінічного прикріплення. Проводили індексну оцінку гігієнічного стану та оцінку ступеня запалення тканин пародонта у порожнині рота й локально у ділянці втручання (індекси: O'Leary (FMPS); ONI-S; PMA; PBI, гінгівальний та гігієнічні індекси Silness-Loë (GI, PI).

У ранній післяопераційний період (протягом 7–14 діб), на терміни зняття швів, оцінювали ступінь дискомфорту для пацієнтів (за критеріями вираженості післяопераційного болю, кровоточивості, гіперемії та набряку тканин) і «індекс раннього загоєння рани» за критеріям запропонованими Н. Wachtel зі співавт. (2003).

Отримані данні (див. таблиці 5.2–5.4, 5.6) свідчать, що використані остеопластичні матеріали за методу СТР у всіх групах хворих призводили до істотного клінічного та рентгенологічного покращення стану пародонта: зниження глибини пародонтальних кишень на 45,7–53,5%, зменшення рівня втрати прикріплення на 28,0–30,4%; заповнення пародонтальних кишень кістковою тканиною на 27,5–30,1%; збільшення щільності кісткової тканини в ділянці імплантації на 30,6–47,3%. У разі використання запропонованої остеотропної композиції за клаптевих операцій виразно спостерігалась тенденція до зменшення дискомфортних проявів у хворих основної групи та покращення загоєння рани у післяопераційний період.

У пацієнтів контрольної групи, де була використана традиційна комбінація «Bio-Oss» та «Bio-Gide», досягнуті результати зменшення рівня втрати прикріплення та глибини зондування суттєво зменшувались через рік порівняно з тримісячним результатом (див табл. 5.5).

Щільність кісткової тканини, що відновлювалась у ділянці імплантації запропонованої остеотропної композиції, була визначена рентгенологічним методом через 12 місяців та істотно ( $p < 0,05$ ) переважала показники щільності кісткової тканини чим у разі застосування ксеногенного матеріалу «Bio-Oss» (див. табл. 5.7).

Таким чином, запропонована остеотропна композиція на основі біокерамічного композиту, легованого іонами срібла та міді, ефективно стимулює відновлення утрачених тканин пародонта. Вона:

- не чинить негативного цитотоксичного впливу на клітинні елементи людини, тому її можна розглядати, у майбутньому, як носія стромальних клітин у разі імплантації в кісткову тканину;
- оптимізує перебіг ранового процесу у ранній післяопераційний

період за рахунок зменшення проявів запалення та больового синдрому;

- стимулює репаративну регенерацію кісткової тканини під час резорбції колагенової бар'єрної мембрани та загоєння післяопераційної рани;
- справляє пролонгований антибактеріальний вплив за поступової біотрансформації керамічного наповнювача;
- забезпечує задовільний бактериостатичний ефект по відношенню до змішаної мікрофлори пародонтальних кишень;
- підтримує високий рівень мінералізації новоствореної кісткової тканини.

Запропонована остеотропна композиція істотно не поступається більш вартісним матеріалам тваринного походження і може бути використана, як матеріал вибору при плануванні хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит.

Дані отримані в результаті проведених клініко-експериментальних досліджень, їх аналіз і співставлення у різні терміни динамічного спостереження у клініці дозволяють зробити ряд узагальнень і висновків. Основні з них приводяться у висновках і практичних рекомендаціях дисертаційної роботи.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне обґрунтування і нове вирішення актуального науково-практичного завдання сучасної стоматології – підвищення ефективності хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит шляхом експериментального і клінічного обґрунтування застосування остеопластичного біокерамічного композиту, легованого іонами срібла та міді, у поєднанні з препаратом остеотропної дії при клаптевій операції за методикою спрямованої тканинної регенерації. Узагальнення результатів проведених досліджень свідчить про досягнення поставленої мети і дозволяє зробити наступні висновки:

1. За результатами проведених експериментальних і клінічних досліджень обґрунтовано та розроблено остеотропну композицію на основі біоактивного керамічного композиту, легованого іонами срібла та міді, у поєднанні з глікозаміногліканвмісним препаратом «Алфлутоп», що може бути застосована як остеопластичний матеріал для хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит.

2. Дослідження фізико-хімічних властивостей зразків біоактивного керамічного композиту з різними концентраціями легуючих домішок показало наявність у ньому рівномірного розподілення фаз гідроксиапатиту,  $\beta$ -трикальційфосфату та склокераміки без утворення сторонніх елементів; нанорозмірність кристалів і достатньо шорстку поверхневу структуру гранул біокераміки, сприятливу для фіксації клітинних елементів.

3. Біоактивний керамічний композит «Синтекість», легований іонами срібла та міді (починаючи від 0,5 ат.% срібла та 0,25 ат.% міді), проявляє антибактеріальні бактеріостатичні властивості до тестових мікроорганізмів *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. alicans* і *E. coli* та змішаної мікрофлори пародонтальних кишень. Біокераміка, насичена 2 ат.% срібла та 1 ат.% міді, проявляє більш виражену бактерицидну дію. Порівняльні мікробіологічні дослідження показали, що антибактеріальна дія біокераміки достовірно поступається лише лінкоміцинвмісному остеопластичному матеріалу ( $p < 0,05$ ).

4. Зразки біоактивного керамічного композиту, нелеговані та леговані сріблом і міддю в межах 1 ат.% і 0,5 ат.%, не чинять цитотоксичної дії на мезенхімальні стромальні клітини людини. Згідно критеріїв ISO 10993 адгезія і морфологія клітин, їх здатність до проліферації та диференціації не порушуються, рН оточуючого середовища не змінюється, що вказує на біосумісність цього типу кераміки. У разі підвищення концентрації іонів срібла та міді біокерамічний композит справляє виражену цитотоксичну дію, тому не може розглядатись як остеопластичний матеріал.

5. Гістологічними дослідженнями показано наявність у остеотропних композицій на основі нелегованої та легованої (1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді) біокераміки у комбінації з препаратом «Алфлутоп» виражених остеопластичних властивостей при заміщенні експериментально відтвореного кісткового дефекту щелепи. Остеостимулювальна дія запропонованої композиції не поступається препарату порівняння «Bio-Oss».

6. Біохімічними дослідженнями підтверджено, що остеотропні композиції на основі нелегованої і легованої (1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді) біокераміки у комбінації з препаратом «Алфлутоп» суттєво коректують порушені біохімічні показники при заміщенні експериментально відтвореного кісткового дефекту щелепи, зокрема нормалізують співвідношення мінеральної та білкової субстанції, достовірно підвищують ( $p < 0,05$ ) активність лужної фосфатази (до  $75,1 \pm 9,8$  мккат/кг) та індекс мінералізації (на 19,3%) порівняно препаратом порівняння «Bio-Oss».

7. Розроблений патогенетично обґрунтований спосіб хірургічного лікування генералізованого пародонтиту з використанням остеотропної композиції на основі легованої (1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді) біоактивної кераміки у комбінації з препаратом «Алфлутоп» показав високу ефективність остеокондукції у 96,3% пацієнтів основної групи, порівняно з 93,2% пацієнтів групи порівняння, де був використаний «Bio-Oss».

8. Клінічну ефективність запропонованого методу хірургічного лікування у віддалені терміни спостереження (до 18 місяців) підтверджено стабілізацією патологічного процесу в тканинах пародонта: достовірним зниженням глибини

пародонтальних кишень на 53,5%, зменшенням рівня втрати прикріплення на 30,4%, заповненням пародонтальних кишень кістковою тканиною на 27,5% і збільшенням щільності кісткової тканини в ділянці імплантації на 47,3% ( $p < 0,05$ ), які не поступаються показникам групи порівняння. У пацієнтів основної групи через 12 місяців після імплантації біокераміки кістковий малюнок нагадував природний, у той час як при застосуванні «Bio-Oss» виявлялись незначні рентгеноконтрастні включення.



## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для хірургічного лікування хворих на генералізований пародонтит II, III ступеня в якості остеопластичного матеріалу для заповнення кісткових пародонтальних кишень рекомендується застосування остеотропної композиції на основі легованої (1 ат.% срібла та 0,5 ат.% міді) біоактивної кераміки (Патент України на корисну модель № 96873) у комбінації з препаратом «Алфлутоп». Найбільш ефективним є її використання у разі проведення клаптевих операцій за методикою спрямованої тканинної регенерації згідно запропонованого нами способу лікування.

2. Запропонована остеотропна композиція може бути виготовлена у клінічних умовах *ex tempore*, шляхом додавання до необхідної кількості модифікованої біокераміки стерильного розчину препарату «Алфлутоп» (у співвідношенні 4:1) з витримкою до повної абсорбції розчину гранулами кераміки. Пародонтологічну бар'єрну мембрану на основі колагену, після адаптації контурів до меж кісткового дефекту, слід також занурити у розчин препарату «Алфлу-топ» на 2–3 хвилин.

3. Модифікований біокерамічний композит може слугувати матеріалом вибору під час планування та проведення клаптевих операціях на тканинах пародонта з метою остеопластики.

4. Для забезпечення максимальної передопераційної візуалізації, оцінки топографії кісткових пародонтальних кишень, передопераційного планування й оцінки ефективності хірургічного лікування найбільш доцільним і ефективним є використання комп'ютерно-томографічного дослідження альвеолярних відростків щелеп з наступною їх тривимірною реконструкцією.

5. Оптимальними умовами для проведення клаптевих операцій за методики спрямованої тканинної регенерації у хворих на генералізований пародонтит II, III ступеня є досягнення на етапах передопераційної підготовки значень індексів ОНІ-S не більше 0,7 балів і РМА – 20%, що суттєво знижує вірогідність післяопераційних ускладнень у ранні терміни.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Афонько А. А. Керамические и композиционные наноматериалы на основе ортофосфатов кальция / А. А. Афонько, С. А. Кириллова, В. И. Альмяшев // Наносистемы: физика, химия, математика. – 2012. – № 3 (5). – С. 84-102.
2. Баринов С. М. Биокерамика на основе фосфатов кальция / Баринов С. М., Комлев В. С. – М. : Наука, 2005. – 204 с.
3. Безруков С. Г. Влияние остеопластических материалов на процессы восстановления в ближайшие сроки после хирургического лечения пародонтита / С. Г. Безруков, В. Н. Кириченко, Н. В. Марченко // Таврический медико-биологический вестник. – 2011. – Т. 14, № 4, ч. 2 (56). – С. 26-28.
4. Белоклицкая Г. Ф. Оценка эффективности применения препарата "Генгигель" в комплексном лечении больных генерализованными заболеваниями тканей пародонта / Г. Ф. Белоклицкая, Н. А. Колесова, Т. Д. Центило // Современная стоматология. – 2011. – № 5. – С. 16-23.
5. Берченко Г. Н. Костные трансплантаты в травматологии и ортопедии / Г. Н. Берченко // Биоматериалы. – 2008. – № 9. – С. 4-5.
6. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – О.: КП ОГТ, 2010. – 16 с.
7. Бицидное действие наночастиц серебра / А. М. Кацев, И. Н. Юркова, В. И. Рябушко [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2012. – Т. 2, № 1-2 (5-6). – С. 46-49.
8. Білоклицька Г. Ф. Чи потрібна в Україні спеціальність «лікар-пародонтолог»? / Г. Ф. Білоклицька, Т. О. Солнцева // Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія. – 2011. – № 3. – С. 76-80.
9. Богдан Т. В. Основы рентгеновской дифрактометрии: учебно-методическое пособие / Т. В. Богдан. – М.: Московский гос. ун-т имени М. В. Ломоносова, 2012. – 64 с.

10. Болонкин В. П. Оптимизация костной пластики в боковых отделах верхней челюсти / В. П. Болонкин, И. В. Болонкин, П. А. Рыбаков, Т. В. Меленберг // Стоматология. – 2008. – № 5. – С. 44-45.
11. Борисенко А. В. Антибактеріальні властивості пломбувального матеріалу на основі біоактивної кераміки «Синтекість» / А. В. Борисенко, О. П. Дудік // Современная стоматология. – 2008. – № 1. – С. 7-10.
12. Борисенко А. В. Застосування пасти для тимчасового заповнення корневих каналів при лікуванні хронічного періодонтиту / А. В. Борисенко, С. І. Паламарчук // Современная стоматология. – 2012. – № 2. – С. 9-10.
13. Борисенко А. В. Оцінка рівня ендогенної інтоксикації організму на етапах комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит / А. В. Борисенко, Н. І. Григ // Современная стоматология. – 2010. – № 5. – С. 44-45.
14. Букина Ю. А. Антибактериальные свойства и механизм бактерицидного действия наночастиц и ионов серебра / Ю. А. Букина, Е. А. Сергеева // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – № 14. – С. 170-172.
15. Бумейстер В. І. Сучасний погляд на репаративний остеогенез / В. І. Бумейстер, М. В. Погорелов // Світ медицини та біології. – 2008. – № 4. – С. 104-110.
16. Васильєв Ю. В. SimPlant Master 8.3 руководство имплантолога / Ю. В. Васильєв – Киев, 2004. – С. 9-15.
17. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів / Методичні рекомендації. – ДФЦ МОЗ України, протокол № 9 від 30.10.2003 року.
18. Використання імплантатів в хірургії голови та шиї, стан проблеми. Перший досвід застосування біокомпозиту "Синтекість" / Л. Г. Розенфельд, Д. І. Заболотний, В. А. Дубок [та ін.] // Сучасні медичні технології : український науково-практичний журнал. – 2009. – № 2. – С. 64-68.

19. Годована О. І. Застосування колагенової мембрани "Остеопласт" для спрямованої регенерації тканин пародонту в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту / О. І. Годована // Современная стоматология. – 2010. – № 3. – С. 67-72.
20. Грудянов А. И. Воспалительные заболевания пародонта как фактор риска развития патологии сердечно-сосудистой системы (обзор литературы) / А. И. Грудянов, О. О. Овчинникова // Стоматология – 2007. – № 5. – С. 76-78.
21. Грудянов А. И. Заболевания пародонта / А. И. Грудянов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2009. – 336 с.
22. Грудянов А. И. Методика направленной регенерации тканей. Подсадочные материалы / А. И. Грудянов, П. В. Чупахин – М.: ООО «Медицинское информационное агентство». – 2007. – 64 с.
23. Грудянов А. И. Методы диагностики воспалительных заболеваний пародонта : руководство для врачей // А. И. Грудянов, О. А. Зорина – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 112 с.
24. Грудянов А. И. Применение препаратов фирмы «Geistlich» (Bio-Oss, Bio-Gide) / А. И. Грудянов, Л. И. Ерохин, С. Ф. Бякова // Новое в стоматологии. – 2001. – № 8. – С. 72-77.
25. Гурин А. Н. Сравнительная оценка влияния различных остеопластических материалов на основе фосфата кальция на заживление костных дефектов : автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. мед. наук // А. Н. Гурин. – Москва, 2009. – 26 с.
26. Данилевский Н. Ф. Систематика болезней пародонта / М. Ф. Данилевский // Вісник стоматології. – 1994. – № 1. – С. 17-21.
27. Данилевський М. Ф. Терапевтична стоматологія. Том 3. Захворювання пародонта / М. Ф. Данилевський, А. В. Борисенко, А. М. Політун [та ін.]. – К.: Медицина, 2008. – 616 с.
28. Деклараційний патент на корисну модель 11609 Україна, МПК А61В 17/00, А61В 17/56. Спосіб лікування кісткових дефектів / В. К. Івченко,

- Д. В. Івченко (UA). – № а200506369 ; заявл. 29. 06.05 ; опубл. 16.01.06, Бюл. № 1.
29. Динамика развития стоматологической ортопедической заболеваемости у лиц молодого возраста во временном аспекте / В. А. Лабунец, Т. В. Диева, М. С. Куликов [и др.] // Вісник стоматології. – 2013. – № 1. – С. 186-187.
30. Добржанська І. А. Експериментальне використання біоактивного керамічного композиту "Синтекість" в мастоїдопластиці / І. А. Добржанська, А. О. Булоусова // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2006. – № 1. – С. 20-24.
31. Доклінічні дослідження лікарських засобів / Методичні рекомендації. – Київ, 2001. – С. 371-396.
32. Дослідження наночастинок срібла за критеріями генотоксичності, мутагенності та впливу на штами-пробіоти шлунково-кишкового тракту людини та тварин / Т. Г. Грузіна, С. М. Дибкова, А. О. Прискока [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 3 (28). – С. 40-46.
33. Єріна А. М. Статистика : підручник / А. М. Єріна, З. О. Пальян ; Держ. вищ. навч. закл. «Київ. нац. екон. ун-т ім. В. Гетьмана». – К.: КНЕУ, 2010. – 351 с.
34. Заболотний Т. Д. Генералізований пародонтит : монографія / Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, А. В. Марков, І. В. Шилівський. – Л.: ГалДент, 2011. – 239 с.
35. Замещение костного дефекта после удаления корня зуба остеотропным материалом easy-graft® crystal с плазмой богатой факторами роста (PRGF) и аутогенной фибриновой мембраной / А. В. Павленко, В. Ф. Токарский, Г. Б. Проць, А. Shterenberg // Современная стоматология. – 2013. – № 5. – С. 96-101.
36. Зулинская М. Е. Применение ионного раствора серебра в лечении острого верхнечелюстного синусита : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.04 / Зулинская М. Е. ; Новосибирская государственная медицинская академия. – Новосибирск, 2006. – 95 с.

37. Иванов В. С. Заболевания пародонта / В. С. Иванов – М.: «МИА». – 2001. – 299 с.
38. Ивлев С. И. Атомно-эмиссионный анализ: методические указания к выполнению лабораторных работ / С. И. Ивлев, В. И. Соколов. Томский политехнический университет. – Томск: Изд-во ТПУ, 2014. – 26 с.
39. Иевлев В. М. Просвечивающая электронная микроскопия неорганических материалов / В. М. Иевлев. – В.: Воронеж. Гос. техн. ун-т, 2003. – 24 с.
40. Казімірко Н. К. Ефективність етапного методу лікування зубів з періапикальною деструкцією / Н. К. Казімірко, Т. А. Чала // Світ медицини та біології. – 2008. – № 3. – С. 29-31.
41. Камінський В. В. Клінічне обґрунтування використання остеотропної кераміки в комплексному лікуванні хворих з посттравматичними дефектами нижньої щелепи : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.22 / В. В. Камінський ; НМУ ім. О. О. Богомольця. – Київ, 2002. – 21 с.
42. Кириченко В. М. Застосування остеопластичних матеріалів біологічного та синтетичного походження при хірургічних втручаннях в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту (експериментально-клінічне дослідження) : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.22 / В. М. Кириченко ; ДУ "Ін-т стоматології АМН України". – Одеса, 2011. – 20 с.
43. Клиническая оперативная челюстно-лицевая хирургия: руководство для врачей / под ред. В. Н. Балина, Н. М. Александрова. 4-е изд., доп. и испр. – СПб.: СпецЛит, 2005. – 574 с.
44. Корж Н. А. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости / Н. А. Корж, Л. А. Кладченко, С. В. Малышкина // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2008. – № 4. – С. 5-14.
45. Кострюков Д. А. Сравнительное клиническое исследование эффективности использования биокomпозиционных материалов в комплексном лечении заболеваний пародонта / Д. А. Кострюков, Ф. М. Махова // Рос. стомат. журн. – 2007. – № 6. – С. 25-27.

46. Коэн Э. С. Атлас косметической и реконструктивной хирургии пародонта: пер. с англ. / Э. С. Коэн ; [под общей ред. О. О. Янушевича]. – М.: Практическая медицина, 2011. – 512 с.
47. Кузьминых И. А. Клинический опыт использования остеопластического материала “Алломатрикс-имплант” и фибрина, насыщенного тромбоцитами, при хирургическом лечении радикулярных кист челюстей / И. А. Кузьминых // Стоматология. – 2009. – № 1. – С. 51-53.
48. Куцевляк В. Ф. Современные представления о связи поражений органов и тканей полости рта с ишемической болезнью сердца / В. Ф. Куцевляк, Д. В. Емельянов // Украинський терапевтичний журнал. – 2012. – № 1. – С. 105-110.
49. Ларионов Е. В. Роль сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) в физиологии и патофизиологии тканей пародонта / Е. В. Ларионов, Т. А. Глыбина // Стоматология сегодня. – 2007. – № 2 (62). – С. 10-11.
50. Лекишвили М. В. Новые биопластические материалы в реконструктивной хирургии / М. В. Лекишвили, А. Ф. Панасюк // Вестник РАМН. – 2008. – № 9. – С. 33-36.
51. Лукина Г. В. Многолетний опыт применения алфлутопа в клинической практике / Г. В. Лукина, Я. А. Сигидин, Л. Н. Денисов // Научно-практич. ревматол. – 2005. – № 5. – С. 64-66.
52. Мальгинова И. С. Экспериментальное исследование регенераторных процессов в дефектах челюстной кости при использовании остеопластического метериала Гапкол с гиалуроновой кислотой и хондроитинсульфатом : дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.21 / И. С. Мальгинова ; МГМСУ. – Москва, 2005. – 123 с.
53. Махова Ф. М. Сравнительная эффективность применения отечественных остеопластических материалов “Биоматрикс” и “Остеоматрикс” в комплексном лечении пародонта : автореф дисс. ... канд. мед. наук : спец.14.00.21 / Ф. М. Махова. – Москва, 2008. – 18 с.
54. Медицинские лабораторные технологии : руководство по клинической лабораторной диагностике : в 2 т. / В. В. Алексеев и др. : под ред.

- А. И. Карпищенко. – 3-е изд., перераб. и доп. – Т. 2. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 792 с.
55. Микробный статус пародонтального кармана / А. Н. Балашов, В. В. Хазанова, Н. А. Дмитриева, Ф. П. Загнат // *Стоматология*. – 1992. – Т. 71, № 1. – С. 22-24.
56. Мінцер О. П. Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині: навч. посібник / О. П. Мінцер, Ю. В. Вороненко, В. В. Власов. – К.: Вища школа, 2003. – 350 с.
57. Миронов А. А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине / А. А. Миронов. – СПб.: Наука, 1994. – 164 с.
58. Модина Т. Н. Концепция «интеллектуальности» или информативности имплантируемых материалов в пародонтальной хирургии / Т. Н. Модина, М. В. Волбат, В. А. Михайлова // *Клиническая стоматология*. – 2007. – № 1 (41). – С. 50-52.
59. Мозгова Н. В. Вазокоригуюча терапія у комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.22 / Н. В. Мозгова ; ДУ «Інститут стоматології АМН України». – Одеса, 2007. – 21 с.
60. Морфологические исследования биосовместимости материалов для замещения костных дефектов челюстных костей на основе костного коллагена, насыщенного сульфатированными гликозаминогликанами / Д. Н. Володина, А. М. Панин, Е. В. Ларионов [и др.] // *Стоматология*. – 2008. – Т. 87, № 3. – С. 9-12.
61. Мудрая В. Н. Применение костнопластических материалов в современной стоматологии / В. Н. Мудрая, И. Г. Степаненко, А. С. Шаповалов // *Укр. журн. клін. та лабор. медицини*. – 2010. – Т. 5, № 1. – С. 52-57.
62. Наносеребро: технологии получения, фармакологические свойства, показания к применению / И. С. Чекман, Б. А. Мовчан, М. И. Загородный [и др.] // *Препарати і технології*. – 2008. – № 5 (51). – С. 32-34.



63. Никулина О. М. Применение обогащенной тромбоцитами плазмы, с остеопластическим материалом, в комплексном лечении пародонтита (эксперим.-клинич. исслед.): автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.21 / О. М. Никулина – Москва, 2010. – 24 с.
64. Овчаренко Е. С. Эффективность отдалённых результатов применения остеопластического материала «Коллапан-Л» в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Е. С. Овчаренко, С. В. Мелехов, М. В. Решетняк // Медицинский алфавит. Стоматология. – 2012. – № 3. – С. 15-20.
65. Опанасюк И. В. Классификация методик имплантации и реконструкции альвеолярного гребня. Их интерпретация / И. В. Опанасюк [Ю. В. Опанасюк], Е. В. Ляшенко, А. З. Сюма // Современная стоматология. – 2006. – № 2. – С. 116-130.
66. Опыт использования остеопластического материала «Остеопласт-К» при хирургических вмешательствах на пародонте / Л. А. Дмитриева, З. Э. Ревазова, Т. А. Катиева [и др.] // Стоматология. – 2007. – Т. 86, № 6. – С. 53-55.
67. Орда О. М. Стоматологічна допомога в Україні / О. М. Орда, М. В. Голубчиков, О. В. Павленко // Центр медичної статистики МОЗ України, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, Асоціація стоматологів України. – Київ, 2007. – 52 с.
68. Островский А. Остеогенные материалы в современной пародонтологии и имплантологии / А. Островский. – М.: Азбука, 2005. – 68 с.
69. Оценка антимикробной активности биокомпозиционных модифицированных материалов / Г. Г. Окропиридзе, Т. Я. Пхакадзе, Н. К. Вабищевич [и др.] // Поликлиника: профессиональный журнал для руководителей и врачей всех специальностей ЛПУ России. – М.: Медицинская пресса, 2011. – № 3. – С. 86-87.
70. Павленко О. В. Морфологічні основи вибору кістковопластичних матеріалів у пародонтології / О. В. Павленко, Е. О. Дмитрієва // Морфологія. – 2011. – Т. 5. №1. – С. 5-12.

71. Паламарчук С. І. Остеостимулювальна композиція для регенерації альвеолярної кістки в експерименті / С. І. Паламарчук, А. В. Борисенко // Вісн. стоматології. – 2012. – № 2. – С. 10-15.
72. Панкратов А. С. Костная пластика в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Остеопластические материалы : [руководство для врачей] / А. С. Панкратов, М. В. Лекишвили, И. С. Копецкий. – М.: Издательство БИНОМ, 2011. – 272 с.
73. Патент на винахід 2354408 Росія, МПК А61L 27/12 / Т. Гербер (DE) – № 20051140093/15 : заявл. 24.05.2004 ; опубл. 5.10.2009.
74. Патент на корисну модель 37180 Україна, МПК А61F 2/28, А61L 27/00. Спосіб лікування кісткових дефектів / Г. Т. Голка, О. В. Танцура, С. Ю. Потімков (UA). – № u200804773 ; заявл. 14. 04.08 ; опубл. 25.11.09, Бюл. № 22.
75. Патент на корисну модель 43042 Україна, МПК А61К 33/42, А61Р 19/00. Композиційний кальцієфосфатний біоматеріал / О. Є. Сич, Н. Д. Пінчук, Л. А. Івченко, О. Р. Пархомей (UA). – № u200902943 ; заявл. 30. 03.09 ; опубл. 27.07.09, Бюл. № 14.
76. Полозок Д. Н. Сравнительная характеристика противомикробной активности разных групп силеров / Д. Н. Полозок // Современная стоматология. – 2005. – № 4. – С. 18–20.
77. Потемкина Н. М. Применение «Хондролопа» в комплексном лечении заболеваний тканей пародонта / Н. М. Потемкина, Л. П. Собачкина, Е. В. Тимошкина / Докл. научно-практ. конф. «Актуальные вопросы пародонтологии», Хабаровск, 28 окт. 2005 // Здравоохр. Дал. Вост. – 2006. – № 1. – С. 62.
78. Применение имплантационных материалов в качестве носителей антибактериальных препаратов / Н. А. Корж, В. А. Радченко, В. А. Филиппенко [и др.] // Вісник ортопедії, травматології та протезування. – 2000. – № 1. – С. 93-99.
79. Применение препаратов Гиалудент в лечении воспалительных заболеваний пародонта / Т. Ю. Вавилова, О. Ю. Жилкина,

- А. Ю. Митронин, И. Ю. Островская // Клиническая стоматология. – 2011. – № 2. – С. 34-36.
80. Проценко В. В. Нові підходи до лікування хворих на гігантоклітинну пухлину кістки (експериментально-клінічне дослідження) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.07 / В. В. Проценко ; Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. – Київ, 2010. – 40 с.
81. Пути восстановления морфофункциональных свойств костной ткани с использованием новых композитных материалов / А. И. Шайхалиев, Г. П. Тер-Асатуров, А. Д. Родионов [и др.] // Клинический журнал. Вестник Мед. Стomat. ин-та. – 2012. – № 1 (20). – С. 56-62.
82. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных (Применение пакета прикладных программ «Statistica») / О. Ю. Реброва – М.: «МедиаСфера». – 2002. – 305 с.
83. Регенерация пародонта / А. Скулеан [и др.] ; [под ред. А. Скулеана] ; пер. с англ.: А. Островский ; науч. ред. пер.: М. Ломакин, К. Бадалян. – М.: Азбука стоматолога, 2012. – 290 с.
84. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия твёрдых тел: теория и практика: учебное пособие / И. С. Осьмушко, В. И. Вовна, В. В. Короченцев [и др.]. – Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2010. – 42 с.
85. Решедько Г. К. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом / Г. К. Решедько, О. У. Стецюк // Клиническая и антимикробная химиотерапия. – 2001. – № 4 (3). – С. 348-354.
86. Рибачук А. В. Протимікробні властивості наносрібла / А. В. Рибачук, І. С. Чекман // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2009. – № 2. – С. 32-36.
87. Риткер П. Действие коллоидного серебра на иммунитет / П. Риткер // Бостон. Новости медицины. – 1999. – Т.4, №15. – С. 120-124.

88. Руководство по клиническим испытаниям лекарственных средств / Под ред. А. В. Стефанова, В. И. Мальцева, Т. К. Ефимцевой – К.: Издательский дом «Авиценна», 2001. – 425 с.
89. Ручьёва Н. В. Повышение эффективности комплексного лечения пародонтита путем сочетанного применения коллагенсодержащего остеопластического препарата и аутотромбоконтрата : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.21 / Н. В. Ручьёва – Новосибирск, 2009. – 22 с.
90. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / под ред. Д. С. Саркисов, Ю. Л. Петров. – М.: Медицина, 1996. – 456 с.
91. Современные возможности препаратов гиалуроновой кислоты в пародонтологии и имплантологии / А. В. Пустынников, Р. В. Ушаков, Т. В. Ушакова // Стоматолог. – 2011. – № 3. – С. 53-58.
92. Стан стоматологічної допомоги населенню України в 1981-2009 роках / Проблеми та перспективи / К. М. Косенко, Г. М. Варава, О. Е. Рейзвіх [та ін.]. – О.: Фенікс. – 2011. – 118 с.
93. Структура, свойства и токсичность наночастиц оксидов серебра и меди / И. Н. Андрусишина, И. А. Голуб, Г. Г. Дидикин [и др.] // Біотехнологія. – 2011. – Т. 4, № 6. – С. 51-59.
94. Структурные характеристики и бактерицидные свойства гидроксилapatита, обогащенного серебром / В. А. Филиппенко, С. В. Малишкина, М. М. Фархан [и др.] // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2000. – № 4. – С. 50-54.
95. Фархан М. М. Застосування гідроксилapatитної кераміки, збагаченої іонами срібла, для пластики кісткових порожнин (експериментально-клінічне дослідження) : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.21 / М. М. Фархан ; Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка. – Харків, 2001. – 15 с.
96. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков [та ін.] // Одеський мед. журн. – 2006. – № 3. – С. 17-21.

97. Харченко Н. Л. Сучасний стан антибіотикорезистентної мікрофлори пародонтальних кишень у хворих на генералізований пародонтит / Н. Л. Харченко // Современная стоматология. – 2011. – № 1. – С. 41-46.
98. Цепов Л. М. Заболевания пародонта: взгляд на проблему / Л. М. Цепов. – М.: «МЕДпресс-информ», 2006. – 192 с.
99. Цинк-, серебросодержащие гидроксипатиты : синтез и свойства / И. В. Фадеева, Н. В. Бакунова, В. С. Комлев [и др.] // Доклады академии наук. – Т. 442, № 6. – 2012. – С. 780-783.
100. Чудова Л. В. Клинико-экспериментальное обоснование сочетанного применения эмалевых матричных протеинов и аутотромбоконцентрата при хирургическом лечении рецессии тканей пародонта : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.21 / Л. В. Чудова; Алтайский государственный медицинский университет Росздрава. – Новосибирск, 2009. – 100 с.
101. Чумакова Ю. Г. Сравнительная оценка чувствительности бактерий пародонтального кармана к разным антибиотикам / Ю. Г. Чумакова, А. А. Вишневская // Современная стоматология. – 2012. – № 2. – С. 70-73.
102. Шемелько М. Л. Аналіз хірургічного втручання при комплексному лікуванні захворювань тканин пародонту в державних стоматологічних поліклініках міста Києва за 2010-2011 роки / М. Л. Шемелько, Г. П. Бернадська, М. О. Павленко // Современная стоматология. – 2013. – № 2. – С. 114-116.
103. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза : метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.]. – К.: ГФЦ, 2005. – 50 с.
104. Юрченко М. Ю. Хирургическое лечение пародонтита с применением обогащенной тромбоцитами плазмы и бета-трикальцийфосфата : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.21 / М. Ю. Юрченко ; Самарский медицинский институт. – Самара, 2005. – 168 с.
105. Яриніч-Бучинська Н. П. Клініко-експериментальне обґрунтування застосування аутологічних клітин крові в комплексному лікуванні хронічного генералізованого пародонтиту : автореф. дис. ... канд. мед.

- наук : 14.01.22 / Н. П. Яриніч-Бучинська ; ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія». – Полтава, 2008. – 18 с.
106. A Bayesian network meta-analysis on comparisons of enamel matrix derivatives, guided tissue regeneration and their combination therapies / Y. Tu, I. Needleman, L. Chambrone [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2012. – Vol. 39, № 3. – P. 303-314.
  107. A biochemical and immuno-electron microscopical analysis of chondroitin sulphate-rich proteoglycans in human alveolar bone / A. J. Smith, S. K. Singhrao, G. R. Newman [et al.] // *Histochem J.* – 1997. – Vol. 29, № 1. – P. 1-9.
  108. A clinical comparison of autogenous bone graft with and without autogenous periodontal ligament graft in the treatment of periodontal intrabony defects / A. Shirmohammadi, M. T. Chitsazi, A. Lafzi [et al.] // *Clin. Oral Investig.* – 2009. – Vol. 13, № 3. – P. 279-286.
  109. A comparative study of the effectiveness of ePTFE membranes with and without early exposure during the healing period / M. Simion, M. Baldoni, P. Rossi, D. Zaffe // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* – 1994. – Vol. 14, № 2. – P. 166-180.
  110. A comparison of cone beam computed tomography and conventional periapical radiography at detecting peri-implant bone defects / M. Dave, J. Davies, R. Wilson, R. Palmer // *Clin. Oral Implants Res.* – 2013. – Vol. 24, № 6. – P. 671-678.
  111. A dual role of Copper on the surfaces of bone implants / F. Lüthen, C. Bergemann, U. Bulnheim [et al.] // *Mat. Sci. Forum.* – 2010. – Vols. 638-642. – P. 600-605.
  112. A modified papilla preservation technique, 22 years later / L. Checchi, M. Montevicchi, V. Checchi, G. A. Bonetti // *Quintessence Int.* – 2009. – Vol. 40, № 4. – P. 303-311.
  113. A novel approach to regenerating periodontal tissue by grafting autologous cultured periosteum / H. Mizuno, K. Hata, K. Kojima [et al.] // *Tissue Eng.* – 2006. – Vol. 12, № 5. – P. 1227-1335.

114. A preliminary study in osteoinduction by a nano-crystalline hydroxyapatite in the mini pig / W. Götz, S. Lenz, C. Reichert [et al.] // *Folia Histochem. Cytobiol.* – 2010. – Vol. 48, №4. – P. 589-596.
115. A randomized, controlled clinical trial to evaluate a new membrane for guided bone regeneration around dental implants / R. E. Jung, G. A. Halg, D. S. Thoma, C. H. Hammerle // *Clin. Oral Implants Res.* – 2009. – Vol. 20, № 2. – P. 162-168.
116. A review of bioactive glasses: their structure, properties, fabrication, and apatite formation / G. Kaur, O.P. Pandey, K. Singh [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2014. – Vol. 102, №1. – P. 254-274.
117. A systematic review of graft materials and biological agents for periodontal intraosseous defects / L. Trombelli, L.J. Heitz-Mayfield, I. Needleman [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2002. – Vol. 29, № 3. – P. 117-135.
118. A systematic review of the effectiveness of bone collectors / F. Graziani, S. Cei, S. Ivanovski [et al.] // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* – 2007. – Vol. 22, № 5. – P. 729-735.
119. Adriaens P. A. Radiography in parodontology using the long-cone parallel technic: justification, technological principles and practical application / P. A. Adriaens, J. De Boever // *Rev. Belge Med. Dent.* – 1992. – Vol. 37, № 2. – P. 44-49.
120. Ag-doped 45S5 Bioglass<sup>®</sup>-based bone scaffolds by molten salt ion exchange: processing and characterization / P. J. Newby, R. El-Gendy, J. Kirkham [et al.] // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2011. – Vol. 22, № 3. – P. 557-569.
121. Amicarelli R. G. Treatment of class II furcation lesion using an autogenous periosteal barrier / R. G. Amicarelli, C. A. Alonso // *Pract. Periodont. Aesthet. Dent.* – 1999. – Vol. 11. – P. 237-244.
122. An in vitro evaluation of the Ca/P ratio for the cytocompatibility of nano-to-micron particulate calcium phosphates for bone regeneration / H. Liu, H. Yazici, C. Ergun, [et al.] // *Acta Biomater.* – 2008. – Vol. 4, № 5. – P. 1472-1479.

123. An in vitro study of plasticized poly(lactico- glycolic acid) films as possible guided tissue regeneration membranes: material properties and drug release kinetics / G. R. Owen, J. K. Jackson, B. Chehroudi, H. M. Burt // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2010. – Vol. 95, № 3. – P. 857-869.
124. Angiogenesis in calcium phosphate scaffolds by inorganic copper ion release / J. Barralet, U. Gbureck, P. Habibovic [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2009. – Vol. 15, № 7. – P. 1601-1609.
125. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials / K. Anselme // *Biomaterials.* – 2000. – Vol. 21 – P. 667-681.
126. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* / K. J. Woo, C. K. Hye, W. K. Ki [et al.] // *Applied & Environmental Microbiology.* – 2008. – Vol. 74, № 7. – P. 2171-2178.
127. Antibacterial activity of silver-nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* / S.-H. Kim, H.-S. Lee, D.-S. Ryu [et al.] // *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 39, № 1. – P. 77-85.
128. Antibacterial and osteogenic properties hydroxyapatite coatings produced using of silver-containing a sol gel process / W. Chen, S. Oh, A. P. Ong [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* – 2007. – Vol. 82A. – P. 899-906.
129. Antibacterial coatings of fluoridated hydroxyapatite for percutaneous implants / X. Ge, Y. Leng, C. Y. Bao [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res., Part A.* – 2010. – Vol. 95A. – P. 588-592.
130. Antibacterial effects and dissolution behavior of six bioactive glasses / D. Zhang, O. Leppä, E. Munukka, L. Hupa [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2010. – Vol. 93, № 2 – P. 475-483.
131. Antibacterial nanosized silver substituted hydroxyapatite: synthesis and characterization / N. Rameshbabu, K. Sampath, T. S. Kumar [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2007. – Vol. 80, № 3. – P. 581-591.
132. Arambawatta A. K. Immunohistochemical characterization of noncollagenous matrix molecules on the alveolar bone surface at the initial principal fiber



- attachment in rat molars / A. K. Arambawatta, T. Yamamoto, M. Wakita // *Ann. Anat.* – 2005. – Vol. 187, № 1. – P. 77-87.
133. Arora R. The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: a meta-analysis / R. Arora // *Am. Heart J.* – 2007. – Vol. 154. – P. 830-837.
134. Bancroft J. D. Theory and practice of histological techniques / J. D. Bancroft, A. Stevens. – 2nd edn. – L.: Churchill Livingstone, 1990. – 740 pp.
135. Bartold P. M. / A biochemical and immunohistochemical study of the proteoglycans of alveolar bone / P. M. Bartold // *J. Dent. Res.* – 1990. – Vol. 69, № 1. – P. 7-19.
136. Bartold P. M. Group C. Initiator paper. Periodontal regeneration – fact or fiction? / P. M. Bartold // *J. Int. Acad. Periodontol.* – 2015. – Vol. 17, № 1 Suppl. – P. 37-49.
137. Bellucci D. Low temperature sintering of innovative bioactive glasses / D. Bellucci, A. Sola, V. Cannillo // *J. Am. Ceram. Soc.* – 2012. – Vol. 95, № 4. – P. 1313-1319.
138. Bertassoni L. E. The contribution of proteoglycans to the mechanical behavior of mineralized tissues / L. E. Bertassoni, M. V. Swain // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* – 2014. – Vol. 38. – P. 91-104.
139. Bioactive glass stimulates in vitro osteoblast differentiation and creates a favorable template for bone tissue formation / C. Loty, J. M. Sautier, M. T. Tan [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2001. – Vol. 16, № 2. – P. 231-239.
140. Biocompatibility and antibacterial effect of silver doped 3D-glass-ceramic scaffolds for bone grafting / C. Balagna, C. Vitale-Brovarone, M. Miola [et al.] // *J. Biomater. Appl.* – 2011. – Vol. 25, № 6. – P. 595-617.
141. Biodegradable mesostructured polymer membranes / B. Tian, S. A. Shankarappa, H. H. Chang [et al.] // *Nano Lett.* – 2013. – Vol. 13, № 9. – P. 4410-4415.
142. Biodegradation of differently cross-linked collagen membranes: an experimental study in the rat / D. Rothamel, F. Schwarz, M. Sager [et al.] // *Clin. Oral Implant Res.* – 2005. – Vol. 16, № 3. – P. 369-378.

143. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration / G. Polimeni, A. V. Xiropaidis, U. M. Wikesjö [et al.] // *Periodontol* 2000. – 2006. – Vol. 41. – P. 30-47.
144. Biomimetic Mg-substituted hydroxyapatite: from synthesis to in vivo behaviour / E. Landi, G. Logroscino, L. Proietti [et al.] // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2008. – Vol. 19, № 1. – P. 239-247.
145. Biomimetic nanocomposites for bone graft applications / C. K. Chan, T. S. Kumar, S. Liao [et al.] // *Nanomedicine.* – 2006. – Vol. 1. – P. 177-188.
146. Bone engineering-vitalisation of alloplastic and allogenic bone grafts by human osteoblast-like cells / M. C. Hinze, M. Wiedmann-Al-Ahmad, R. Glaum [et al.] // *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2010. – Vol. 48, № 5. – P. 369-373.
147. Bone healing in critical-size defects treated with new bioactive glass/calcium sulfate: a histologic and histometric study in rat calvaria / M. J. Nagata, F. A. Furlaneto, J. Moretti [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2010. – Vol. 95, № 2. – P. 269-275.
148. Bone regeneration in the presence of a synthetic hydroxyapatite/silica oxide-based and a xenogenic hydroxyapatite-based bone substitute material / A. Kruse, R. E. Jung, F. Nicholls [et al.] // *Clin. Oral Implants Res.* – 2011. – Vol. 22, № 5. – P. 506-511.
149. Bosshardt D. D. Does periodontal tissue regeneration really work? / D. D. Bosshardt, A. Sculean // *Periodontol* 2000. – 2009. – Vol. 51 – P. 208-219.
150. Boyne P. J. Implants and transplants: review of recent research in this area of oral surgery / P. J. Boyne // *J. Am. Dent. Assoc.* – 1973. – Vol. 87, № 5. – P. 1074-80.
151. Burt B. Position paper: epidemiology of periodontal diseases / Burt B. // *J. Periodontol.* – 2005. – Vol. 76, № 8. – P. 1406-1419.
152. Carbonate substituted hydroxyapatite: resorption by osteoclasts modifies the osteoblastic response / G. Spence, N. Patel, R. Brooks, N. Rushton // *J. Biomed. Mater. Res, Part A.* – 2009. – Vol. 90, № 1. – P. 217-224.

153. Carranza`s clinical periodontology, 11th ed. : monograph / ed. by : M. G. Newman, H. Takei, P. R. Klokkevold, F. A. Carranza. – Elsevier Saunders, 2012. – 872 pp.
154. Caton J. G. Factors related to periodontal regeneration / J. G. Caton, G. Greenstein // Periodontol. 2000. – 1993. – Vol. 1. – P. 9-15.
155. Cementum engineering with threedimensional polymer scaffolds / Q. M. Jin, M. Zhao, S. A. Webb [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2003. – Vol. 67, № 1. – P. 54-60.
156. Characterization of porous hydroxyapatite. / K. A. Hing, S. M. Best, W. Bonfield [et al.] // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 1999. – Vol. 10. – P. 135-145.
157. Chaves M. D. Bovine hydroxyapatite (Bio-Oss<sup>®</sup>) induces osteocalcin, RANK-L and osteoprotegerin expression in sinus lift of rabbits / M. D. Chaves, L. S. de Souza Nunes, R. V. de Oliveira [et al.] // J. Craniomaxillofac. Surg. – 2012. – Vol. 40, № 8. – P. 315-320.
158. Chitosan as a barrier membrane material in periodontal tissue regeneration / C. Xu, C. Lei, L. Meng, C. Wang // J. Biomed. Mater. Res. – 2012. – Vol. 100. – P. 1435-1443.
159. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives / D. D. M. Ehrenfest, I. Andia, M. A. Zumstein [et al.] // Muscles Ligaments Tendons J. – 2014. – Vol. 4, № 1. – P. 3-9.
160. Clinical and radiographical evaluation of a bioresorbable collagen membrane of fish origin in the treatment of periodontal intrabony defects: a preliminary study / B. B. Santosh Kumar, D. R. Aruna, V. S. Gowda [et al.] // J. Indian Soc. Periodontol. – 2013. – Vol. 17, № 5. – P. 624-630.
161. Clinical outcomes of guided tissue regeneration with Atrisorb membrane in the treatment of intrabony defects: a 3-year follow-up study / U. Sakallioğlu, U. Yavuz, M. Lütfioğlu, I. Keskiner // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2007. – Vol. 27, № 1. – P. 79-88.

162. Comparison of nanocrystalline hydroxyapatite and synthetic resorbable hydroxyapatite graft in the treatment of intrabony defects: A clinical and radiographic study / M. Bansal, M. Kaushik, B. B. Khattak, A. Sharma // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2014. – Vol. 18, № 2. – P. 213-219.
163. Comparison of periodontal ligament cells responses to dense and nanophase hydroxyapatite / W. Sun, C. Chu, J. Wang, H. Zhao // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2007. – Vol. 18, № 5. – P. 677-683.
164. Copper-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteostimulation and antibacterial activity / C. Wu, Y. Zhou, M. Xu [et al.] // *Biomaterials.* – 2013. – Vol. 34, № 2. – P. 422-433.
165. Cortellini P. Clinical and radiographic outcomes of the modified minimally invasive surgical technique with and without regenerative materials: a randomized-controlled trial in intra-bony defects / P. Cortellini, M. S. Tonetti // *J. Clin. Periodontol.* – 2011. – Vol. 38, № 4. – P. 365-373.
166. Cortellini P. Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration / P. Cortellini, M. S. Tonetti // *Periodontol.* 2000. – 2000. – № 22. – P. 104-132.
167. Cortellini P. The modified papilla preservation technique with bioresorbable barrier membranes in the treatment of intrabony defects. Case reports / P. Cortellini, G. P. Prato, M. S. Tonetti // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* – 1996. – Vol. 16, № 6. – P. 546-559.
168. Cortellini P. The modified papilla preservation technique. A new surgical approach for interproximal regenerative procedures / P. Cortellini, G. P. Prato, M. S. Tonetti // *J. Periodontol.* – 1995. – Vol. 66, № 4. – P. 261-266.
169. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics / G. Daculsi, O. Laboux, O. Malard, P. Weiss // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2003. – Vol. 14. – P. 195-200.
170. Czuryzkiewicz-Cyrana J. Autogenous bone and platelet-rich plasma (PRP) in the treatment of intrabony defects / J. Czuryzkiewicz-Cyrana, J. Banach // *Adv. Med. Sci.* – 2006. – Vol. 51, (Suppl. 1). – P. 26-30.

171. Dannan A. Minimally invasive periodontal therapy / A. Dannan // J. Indian Soc. Periodontol. – 2011. – Vol. 15, № 4. – P. 338-343.
172. Darby I. Periodontal materials / I. Darby // Aust. Dent J. – 2011. – Vol. 56, № 1. – P. 107-118.
173. De Sanctis M. Bacterial colonization of barrier material and periodontal regeneration / M. De Sanctis, G. Zucchelli, C. Clauser // J. Clin. Periodontol. – 1996. – Vol. 23, № 11. – P. 1039-1046.
174. DeCarlo A. A. The role of heparan sulfate and perlecan in bone-regenerative procedures / A. A. DeCarlo, J. M. Whitelock // J. Dent. Res. – 2006. – Vol. 85, № 2. – P. 122-132.
175. Deliberador T. M. Bioactive glass and connective tissue graft used to treat intrabony periodontal defects / T. M. Deliberador, D. R. Trotta, L. G. Klug [et al.] // Gen. Dent. – 2013. – Vol. 61, № 4. – P. 72-74.
176. Deproteinized bovine bone and gentamicin as an adjunct to GTR in the treatment of intrabony defects: a randomized controlled clinical study / A. Stavropoulos, E. S. Karring, L. Kostopoulos, T. Karring // J. Clin. Periodontol. – 2003. – Vol. 30. – P. 486-495.
177. Development of the biological concept of guided tissue regeneration – animal and human studies / T. Karring, S. Nyman, J. Gottlow [et al.] // Periodontol. 2000. – 1993. – Vol. 1. – P. 26-35.
178. Different effects of a novel CaO-MgO-SiO<sub>2</sub>-based multiphase glass-ceramic on cell behaviors of normal and cancer cells in vitro / M. Zhang, X. Chen, X. Pu [et al.] // Colloids Surf. B. Biointerfaces. – 2014. – Vol. 1, № 116. – P. 1-8.
179. Döri F. Ten-year results following treatment of intrabony defects with an enamel matrix protein derivative combined with either a natural bone mineral or a  $\beta$ -tricalcium phosphate / F. Döri, N. B. Arweiler, E. Szántó [et al.] // J. Periodontol. – 2013. – Vol. 84, № 6. – P. 749-757.
180. Dorozhkin S. V. Calcium Orthophosphates as Bioceramics: state of the art / S. V. Dorozhkin // J. Funct. Biomater. – 2010. – Vol. 1, № 1. – P. 22-107.
181. Dorozhkin S. V. Calcium orthophosphates in dentistry / Dorozhkin S. V. // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2013. – Vol. 24, № 6. – P. 1335-1363.

182. Dorozhkin S. V. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine / S. V. Dorozhkin // *Materials*. – 2009. – Vol. 2, № 1. – P. 399-498.
183. Dorozhkin S. V. Nanodimensional and nanocrystalline apatites and other calcium orthophosphates in biomedical engineering, biology and medicine / S. V. Dorozhkin // *Materials*. – 2009. – Vol. 2, № 4. – P. 1975-2045.
184. Dowson C. Influence of horizontal gene transfer (mosaic genes) on antibiotic resistance in *Streptococcus pneumonia* and *Neisseria meningitidis* / C. Dowson // *Antibiotics Chemother.* – 1998. – Vol. 2, № 2. – P. 13-15.
185. Dumitrescu A. L. Chemicals in surgical periodontal therapy / A. L. Dumitrescu. – Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011. – 307 pp.
186. Dye B. A. Global periodontal disease epidemiology / B. A. Dye // *Periodontol.* 2000. – 2012. – Vol. 58, № 1. – P. 10-25.
187. Effect of repeated local Minocycline administration on periodontal healing following guided tissue regeneration / N. Yoshinari, T. Tohya, H. Kawase, M. Matsuoka [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2001. – Vol. 3. – P. 284-295.
188. Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicate-substituted porous hydroxyapatite scaffolds / K. A. Hing, P. A. Revell, N. Smith, T. Buckland // *Biomaterials*. – 2006. – Vol. 27, № 29. – P. 5014-5026.
189. Effects of bioactive glass, hydroxyapatite and bioactive glass - hydroxyapatite composite graft particles in the treatment of infrabony defects / S. Mistry, D. Kundu, S. Datta, D. Basu // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2012. – Vol. 16, № 2. – P. 241-246.
190. Effects of enamel matrix proteins on multi-lineage differentiation of periodontal ligament cells in vitro / H. D. Amin, I. Olsen, J. C. Knowles [et al.] // *Acta Biomater.* – 2013. – Vol. 9, № 1. – P. 4796-4805.
191. Eight-week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs / J. S. Park, S. H. Choi, I. S. Moon [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2003. – Vol. 30, № 5. – P. 443-453.
192. Elsinger E. C. Coralline hydroxyapatite bone graft substitutes / E. C. Elsinger, L. Leal // *J. Foot Ankle Surg.* – 1996. – Vol. 35, № 5 – P. 396-399.

193. Endothelial cells incubated with platelet-rich plasma express PDGF-B and ICAM-1 and induce bone marrow stromal cell migration / E.Cenni, G.Ciapetti, D. Granchi, [et al.] // *Journal of Orthopaedic Research*. – 2009. – Vol. 27, № 11. – P. 1493–1498.
194. ESCA studies of Ag, Ag<sub>2</sub>O and AgO / G. Schön, J. Tummavuori, B. Lindström [et al.] // *Acta Chem. Scand.* – 1973. – Vol. 27. – P. 2623-2633.
195. Evaluation of bioactive glass and demineralized freeze dried bone allograft in the treatment of periodontal intraosseous defects: a comparative clinico-radiographic study / K. K. Katuri, P. J. Kumar, C. Swarna [et al.] // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2013. – Vol. 17, № 3. – P. 367-372.
196. Evaluation of the effect of Plasma Rich in Growth Factors (PRGF) on Bone Regeneration / M. Paknejad, Y. S. Shayesteh, S. Yaghobee [et al.] // *J. Dent. (Tehran)*. – 2012. – Vol. 9, № 1. – P. 59-67.
197. Events of wound healing/regeneration in the canine supraalveolar periodontal defect model / D. P. Dickinson, B. G. Coleman, N. Batrice [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2013. – Vol. 40, № 5. – P. 527-541.
198. Fate of bone formed by guided tissue regeneration with or without grafting of Bio-Oss or Biogran. An experimental study in the rat / A. Stavropoulos, L. Kostopoulos, J. R. Nyengaard, T. Karring // *J. Clin. Periodontol.* – 2004. – Vol. 31, № 1. – P. 30-39.
199. Gamal A. Y. A novel marginal periosteal pedicle graft as an autogenous guided tissue membrane for the treatment of intrabony periodontal defects / A. Y. Gamal, J. M. Mailhot // *J. Int. Acad. Periodontol.* – 2008. – Vol. 10, № 4. – P. 106-117.
200. Giavaresi G. Blood vessel formation after soft-tissue implantation of hyaluronan-based hydrogel supplemented with copper ions / G. Giavaresi, P. Torricelli, P.M. Fornasari // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26, № 16. – P. 3001-3008.
201. Gingival tissue proteoglycan and chondroitin-4-sulphate levels in cyclosporin A-induced gingival overgrowth and the effects of initial periodontal treatment

- / S. Vardar, H. Baylas, F. Zihnioğlu [ et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2005. – Vol. 32, № 6. – P. 634-639.
- (Bio-Oss™) in infrabony periodontal defects / S. T. Gokhale, C. D. Dwarakanath // J. Indian Soc. Periodontol. – 2012. – Vol. 16, № 2. –
203. Greene J. C. The simplified oral hygiene index / J. C. Greene, J. R. Vermillion // J. Am. Dent. Assoc. – 1964. – Vol. 68. – P. 7-13.
204. Grover V. Evaluation of the efficacy of a bioactive synthetic graft material in the treatment of intrabony periodontal defects / V. Grover, A. Kapoor, R. Malhotra, R. S. Uppal // J. Indian Soc. Periodontol. – 2013. – Vol. 17, № 1. – P. 104-110.
205. Gupta S. Evaluation of hydroxyapatite (Periobone-G) as a bone graft material and calcium sulfate barrier (Capset) in treatment of interproximal vertical defects: A clinical and radiologic study / S. Gupta, K. L. Vandana // J. Indian Soc. Periodontol. – 2013. – Vol. 17, № 1. – P. 96-103.
206. Hammond J. S. X-ray photoelectron spectroscopic studies of cadmium- and silver-oxygen surfaces / J. S. Hammond, S. W. Gaarenstroom, N. Winograd // Anal Chem. – 1975. – Vol. 47. – P. 2193-2199.
207. Healing of two and three wall intrabony periodontal defects following treatment with an enamel matrix derivative combined with autogenous bone / S. Yilmaz, G. Cakar, B. Yildirim, A. Sculean // J. Clin. Periodontol. – 2010. – Vol. 37, № 6. – P. 544-550.
208. Hench L. L. Bioceramics: from concept to clinic / L. L. Hench // J. Am. Ceram. Soc. – 1991. – Vol. 74. – P. 1487-1510.
209. Henstock J. R. Silicon: the evolution of its use in biomaterials / J. R. Henstock, L. T. Canham, S. I. Anderson // Acta Biomater. – 2015. – Vol. 11. – P. 17-26.
210. Horizontal ridge augmentation with a collagen membrane and a combination of particulated autogenous bone and anorganic bovine bone-derived mineral: a prospective case series in 25 patients / A. Urban, H. Nagursky, J. L. Lozada,



- K. Nagy // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* – 2013. – Vol. 33, № 3. – P. 299-307.
211. Hu Y. C. Osteostimulation of bioglass / Y. C. Hu, J. P. Zhong // *Chin. Med. J. (Engl.)*. – 2009. – Vol. 122, № 19. – P. 2386-2389.
212. Hyaluronic Acid as an adjunct after scaling and root planing: a prospective randomized clinical trial / S. Eick, A. Renatus, M. Heinicke [et al.] // *J. Periodontol.* – 2013. – Vol. 84, № 7. – P. 941-949.
213. Hyaluronic acid promotes angiogenesis by inducing RHAMM-TGF $\beta$  receptor interaction via CD44-PKC $\delta$  / D. Park, Y. Kim, H. Kim [et al.] // *Mol. Cells.* – 2012. – Vol. 33, № 6. – P. 563-574.
214. Hyaluronidases have strong hydrolytic activity toward chondroitin 4-sulfate comparable to that for hyaluronan / T. Honda, T. Kaneiwa, S. Mizumoto [et al.] // *Biomolecules.* – 2012. – Vol 2, № 4. – P. 549-563.
215. Hypoxia-mimicking mesoporous bioactive glass scaffolds with controllable cobalt ion release for bone tissue engineering / C. Wu, Y. Zhou, W. Fan [et al.] // *Biomaterials.* – 2012. – Vol. 33, № 7. – P. 2076-2085.
216. Immunolocalization of bone matrix macromolecules in human tissues regenerated from periodontal defects treated with expanded polytetrafluoroethylene membranes / S. Amar, P. Petrunaro, A. Amar, T. E. van Dyke // *Arch. Oral Biol.* – 1995. – Vol. 40, № 7. – P. 653-661.
217. Implantation of silicon dioxide-based nanocrystalline hydroxyapatite and pure phase beta-tricalciumphosphate bone substitute granules in caprine muscle tissue does not induce new bone formation / S. Ghanaati, S.E. Udeabor, M. Barbeck [et al.] // *Head Face Med.* – 2013. – Vol. 4. – P. 9-11.
218. In vitro assessment of antibacterial activity and cytocompatibility of silver-containing PHBV nanofibrous scaffolds for tissue engineering / Z. C. Xing, W. P. Chae, J. Y. Baek [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2010. – Vol. 11. – P. 1248-1253.
219. In vitro/In vivo comparison of cefuroxime release from polycaprolactone (PCL)/Calcium sulfate (CaS) implants for osteomyelitis treatment

- / V. Yaprakci, O. Erdemli, A. Kayabolen [et al.] // *Biotechnol. Appl. Biochem.* – 2013. – Vol. 60, № 6. – P. 603-616.
220. In vivo analysis of biocompatibility and vascularization of the synthetic bone grafting substitute NanoBone / K. Abshagen, I. Schrodi, T. Gerber, B. Vollmar // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2009. – Vol. 91, № 2. – P. 557-566.
221. Influence of autogenous platelet concentrate on combined GTR/graft therapy in intrabony defects: a 7-year follow-up of a randomized prospective clinical split-mouth study / D. Moder, F. Taubenhansl, K. A. Hiller [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2012. – Vol. 39, № 5. – P. 457-465.
222. Initial attachment of osteoblastic cells onto sol-gel derived fluoridated hydroxyapatite coatings / Y. S. Wang, S. Zhang, X. T. Zeng [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res., Part A.* – 2008. – Vol. 84A. – P. 769-775.
223. International Organization for Standardization (ISO). Biological Evaluation of Medical Devices, ISO 10993 – Part 5 : Tests for in Vitro Cytotoxicity ; International Organization for Standardization: Geneve, Switzerland, 2009.
224. Jabbari E. Osteogenic peptides in bone regeneration / E. Jabbari // *Curr. Pharm. Des.* – 2013. – Vol. 19, № 19. – P. 3391-3402.
225. Kao R. T. Periodontal regeneration – intrabony defects: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop / R. T. Kao, S. Nares, M. A. Reynolds // *J. Periodontol.* – 2015. – Vol. 86, № 2 Suppl. – P. S77-S104.
226. Kim S. S. Comparison of osteogenic potential between apatite-coated poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite particulates and Bio-Oss / S. S. Kim, B. S. Kim // *Dent. Mater. J.* – 2008. – Vol. 27, № 3. – P. 368-375.
227. Kornman K. S. Fundamental principles affecting the outcomes of therapy for osseous lesions / K. S. Kornman, P. B. Robertson // *Periodontol.* 2000. – 2000. – Vol. 22. – P. 22-43.
228. Kreuger J. Heparan sulfate biosynthesis: regulation and variability / J. Kreuger, L. Kjellén // *J. Histochem. Cytochem.* – 2012. – Vol. 60, № 12. – P. 898-907.
229. Kumar A. Comparative evaluation of periosteum as a barrier membrane with and without an alloplastic bone graft in periodontal osseous defects: a 9 months

- follow-up study / A. Kumar, N. Lal, R. Singhal, P. Rastogi // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2014. – Vol. 18, № 4. – P. 493-496.
230. Kuru B. Enamel matrix derivative alone or in combination with a bioactive glass in wide intrabony defects / B. Kuru, S. Yilmaz, K. Argin, U. Noyan // *Clin. Oral Investig.* – 2006. – Vol. 10, № 3. – P. 227-234.
231. Larjava H. A biochemical analysis of human periodontal tissue proteoglycans / H. Larjava, L. Häkkinen, F. Rahemtulla // *Biochem. J.* – 1992. – Vol. 284, № 1. – P. 267-274.
232. Lee M. J. Effect of hydroxyapatite on bone integration in a rabbit tibial defect model / M. J. Lee, S. K. Sohn, K. T. Kim // *Clin. Orthop. Surg.* – 2010. – Vol. 2, № 2. – P. 90-97.
233. LeGeros R. Z. Calcium phosphate bioceramics: past, present, future / R. Z. LeGeros, J. P. LeGeros // *Key Eng. Mater.* – 2003. – Vols. 240–242. – P. 3-10.
234. Lekholm U. Patient selection and preparation. Tissue integrated prostheses / U. Lekholm, G. A. Zarb, T. Albrektsson. – Chicago: Quintessence Publishing Co. Inc., 1985. – P. 199-209.
235. Lobo S. E. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone regeneration and tissue engineering applications / S. E. Lobo, T. L. Arinzeh // *Materials.* – 2010. – № 3. – 815-826.
236. Löe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index systems / H. Löe // *J Periodontol.* – 1967. – Vol. 38, № 6. – P. 610-616.
237. Magnetic mesoporous bioactive glass scaffolds with hierarchical pore structure and multifunction / C. Wu, W. Fan, Y. Zhu [et al.] // *Acta Biomater.* – 2011. – Vol. 7, № 10. – P. 3563-3572.
238. Mahajan A. Treatment of multiple gingival recession defects using periosteal pedicle graft: A case series / A. Mahajan // *J. Periodontol.* – 2010. – Vol. 81, № 10. – P. 1426-1431.
239. Maney P. Applications of plasma rich in growth factors (PRGF) in dental surgery: a review / P. Maney, M. Amornporncharoen, A. Palaiologou // *J. West Soc. Periodontol. Periodontal. Abstr.* – 2013. – Vol. 61, № 4. – P. 99-104.

240. Manon-Jensen T. Proteoglycans in health and disease: the multiple roles of syndecan shedding / T. Manon-Jensen, Y. Itoh, J. R. Couchman // FEBS J. – 2010. – Vol. 277, № 19. – P. 3876-3889.
241. Mariotti A. Efficacy of clinical root surface modifiers in the treatment of periodontal disease. A systematic review / A. Mariotti // Ann. Periodontol. – 2003. – Vol. 8, № 1. – P. 205-226.
242. Melcher A. H. On the repair potential of periodontal tissues / Melcher A. H. // J. Periodontol. – 1976. – Vol. 47, № 5. – P. 256-260.
243. Microbial analysis of bone collected during implant surgery: a clinical and laboratory study / M. P. Young, D. H. Carter, H. Worthington [et al.] // Clin Oral Implants Res. – 2001. – Vol. 12. – P. 95-103.
244. Microbial colonization patterns predict the outcomes of surgical treatment of intrabony defects / L. Heitz-Mayfield, M. S. Tonetti, P. Cortellini, N. P. Lang; ERGOPERIO // J. Clin. Periodontol. – 2006. – Vol. 33, № 1. – P. 62-68.
245. Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study / H. Wachtel, G. Schenk, S. Böhm [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2003. – Vol. 30, № 6. – P. 496-504.
246. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller [et al.] // Cytotherapy. – 2006. – Vol. 8, № 4. – P. 315-317.
247. Molecular basis for resistance to silver cations in Salmonella / A. Gupta, K. Matsui, J. F. Lo, S. Silver // Nat. Med. – 1999. – Vol. 5, № 2. – P. 183-188.
248. Moore W. R. Synthetic bone graft substitutes / W. R. Moore, S. E. Graves, G. I. Bain // ANZ J. Surg. – 2011. – Vol. 74. – P. 354-361.
249. Mühlemann H. R. Psychological and chemical mediators of gingival health / H. R. Mühlemann // J. Prev. Dent. – 1977. – Vol. 4. – P. 6-11.
250. Nano-crystalline hydroxyapatite bone graft combined with bioresorbable collagen membrane in the treatment of periodontal intrabony defects: a

- randomized controlled clinical trial // V. P. Singh, D. G. Nayak, A. S. Uppoor, D. Shah // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2012. – Vol. 16, № 4. – P. 562-568.
251. Nano-hydroxyapatite improves the properties of  $\beta$ -tricalcium phosphate bone scaffolds / C. Shuai, P. Feng, Y. Nie [et al.] // *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* – 2013. – Vol. 10, № 6. – P. 1-11.
252. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease / S. Nyman, J. Lindhe, T. Karring [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 1982. – Vol. 9, № 4. – P. 290-296.
253. Nies D. H. The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton antiporter in *Escherichia coli* / Nies D. H. // *J. Bacteriol.* – 1995. – 177, № 10. – P. 2707-2712.
254. O’Leary T. J. The plaque control record / T. J. O’Leary, B.R. Drake, J. E. Naylor // *J Periodontol.* – 1972. – Vol. 43, № 1. – P. 38.
255. Osteoblast response to nanocrystalline calcium hydroxyapatite depends on carbonate content / B. R. Adams, A. Mostafa, Z. Schwartz, B. D. Boyan // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2014. – Vol. 102, № 9. – P. 3237-3242.
256. Osteoconductivity of modified fluorcanasite glass-ceramics for bone tissue augmentation and repair / S. Bandyopadhyay-Ghosh, P. E. Faria, A. Johnson [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2010. – Vol. 94, № 3. – P. 760-768.
257. Osteoinductive ceramics as a synthetic alternative to autologous bone grafting / H. Yuan, H. Fernandes, P. Habibovic [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – Vol. 107, № 31. – P. 13614-13619.
258. Paolantonio M. Autogenous periosteal barrier membranes and bone grafts in the treatment of periodontal intrabony defects of single-rooted teeth: a 12-month reentry randomized controlled clinical trial / M. Paolantonio, B. Femminella, E. Coppolino // *J. Periodontol.* – 2010. – Vol. 81, № 11 – P. 1587-1595.
259. Periodontal healing following reconstructive surgery: effect of guided tissue regeneration using a bioresorbable barrier device when combined with autogenous bone grafting. A randomized-controlled trial 10-year follow-up

- / P. Nygaard-Østby, V. Bakke, O. Nesdal [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2010. – Vol. 37, № 4. – P. 366-373.
260. Periodontal healing in one-wall intra-bony defects in dogs following implantation of autogenous bone or a corald-derived biomaterial / C. S. Kim, S. H. Choi, K. S. Cho [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2005. – Vol. 32, № 6. – P. 583-589.
261. Periodontal regeneration of intrabony defects with resorbable and nonresorbable membranes: 30-month result / M. Christgau, G. Schmalz, A. Wenzel, K. A. Hiller // *J. Clin. Periodontol.* – 1997. – Vol. 24, № 1. – P. 17-21.
262. Pirhonen E. M. Novel membrane for guided bone regeneration / E. M. Pirhonen, T. H. Pohjonen, F. E. Weber // *Int. J. Artif. Organs.* – 2006. – Vol. 29, № 9. – P. 834-840.
263. Platelet rich fibrin and alloplast in the treatment of intrabony defect / S. Panda, S. Ramamoorthi, N. D. Jayakumar [et al.] // *J. Pharm. Bioallied. Sci.* – 2014. – Vol. 6, № 2. – P. 127-131.
264. Pre- and postoperative assessment of sinus grafting procedures using cone-beam computed tomography compared with panoramic radiographs / M. Baciut, M. Hedesiu, S. Bran [et al.] // *Clin. Oral Implants Res.* – 2013. – Vol. 24, № 5. – P. 512-516.
265. Preparation and characterization of water-soluble chitosan derivative by Michael addition reaction / J. Mingyan, W. Kemin, F. K. John [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules.* – 2010. – Vol. 47, № 5. – P. 696-699.
266. Preparation and in vitro bioactivity of zinc containing sol-gel-derived bioglass materials / A. Oki, B. Parveen, S. Hossain [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2004. – Vol. 69, № 2. – P. 216-221.
267. Proliferation, differentiation and gene expression of osteoblasts in boron-containing associated with dexamethasone deliver from mesoporous bioactive glass scaffolds / C. Wu, R. Miron, A. Sculeaan [et al.] // *Biomaterials* – 2011. – Vol. 32, № 29. – P. 7068-7078.

268. Ramfjord S. P. The modified widman flap / S. P. Ramfjord, R. R. Nissle // *J. Periodontol.* – 1974. – Vol. 45, № 8. – P. 601-607.
269. Recent advances in the structural biology of chondroitin sulfate and dermatan sulfate / K. Sugahara, T. Mikami, T. Uyama [et al.] // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2003. – Vol. 13, № 5. – P. 612-620.
270. Regeneration of the periodontium using enamel matrix derivative in combination with an injectable bone cement / D. A. Oortgiesen, G. J. Meijer, A. L. Bronckers [et al.] // *Clin. Oral Investig.* – 2013. – Vol. 17, № 2. – P. 411-422.
271. Regenerative periodontal therapy of infrabony defects using minimally invasive surgery and a collagen-enriched bovine-derived xenograft: a 1-year prospective study on clinical and aesthetic outcome / J. Cosyn, R. Cleymaet, L. Hanselaer, H. De Bruyn // *Clin. Periodontol.* – 2012. – Vol. 39, № 10. – P. 979-986.
272. Reliability of attachment level measurements using the cemento-enamel junction and plastic stent / D. C. Clark, T. C. Quee, M. J. Bergeron [et al.] // *J. Periodontol.* – 1987. – Vol. 58, № 2. – P. 115-118.
273. Reynolds J. J. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis / J. J. Reynolds, M. C. Meikle // *Periodontol 2000.* – 1997. – Vol. 14, № 1. – P. 144-157.
274. Ricard-Blum S. Matricryptins and matrikines: biologically active fragments of the extracellular matrix / S. Ricard-Blum, R. Salza // *Exp. Dermatol.* – 2014. – Vol. 23, № 7. – P. 457-463.
275. Ridge preservation with synthetic nanocrystalline hydroxyapatite reduces the severity of gingival invaginations—a prospective clinical study / C. Reichert, M. Wenghoefer, E. Kutschera [et al.] // *J. Orofac. Orthop.* – 2014. – Vol. 75, № 1. – P. 7-15.
276. Robinson E. Osseous coagulum for bone induction / E. Robinson // *J. Periodontol.* – 1969. – Vol. 40, № 9. – P. 503-510.

277. Rodriguez J. P. Modulation of the proliferation and differentiation of human mesenchymal stem cells by copper / J. P. Rodriguez, S. Rios, M. Gonzalez // *J. Cell. Biochem.* – 2002. – Vol. 85, № 1. – P. 92-100.
278. Role of hypoxia-inducible factor-1alpha in angiogenic-osteogenic coupling / R.C. Riddle, R. Khatri, E. Schipani, T.L. Clemens // *J. Mol. Med. (Berl.)*. – 2009. – Vol. 87, № 6. – P. 583-590.
279. Rosen P. S. The treatment of intrabony defects with bone grafts / P. S. Rosen, M. A. Reynolds, G. M. Bowers // *Periodontol 2000*. – 2000. – Vol. 22. – P. 88-103.
280. Rothamel D. Clinical performance of a new biphasic  $\beta$ -TCP/Hydroxyapatite ceramic. A consecutive case report study / D. Rothamel, J. Neugebauer, J. Zöller // *Z. Oral. Implantologie*. – 2009. – Vol. 2. – P. 2-9.
281. Saimbi C. S. Periosteum as a barrier membrane in the treatment of intrabony defect: a new technique / C. S. Saimbi, A. Gautam, M. A. Khan // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2014. – Vol. 18, № 3. – P. 331-335.
282. Scabbia A. A comparative study on the use of a HA/collagen/chondroitin sulphate biomaterial (Biostite) and a bovine-derived HA xenograft (Bio-Oss) in the treatment of deep intra-osseous defects / A. Scabbia, L. Trombelli // *J. Clin. Periodontol.* – 2004. – Vol. 31, № 5. – P. 348-355.
283. Schour I. Survey of gingival disease using PMA Index / I. Schour, M. Massler // *J. Dent. Res.* – 1948. – Vol. 27. – P. 733-735.
284. Sculean A. Regeneration of periodontal tissues: combinations of barrier membranes and grafting materials – biological foundation and preclinical evidence: a systematic review / A. Sculean, D. Nikolidakis, F. Schwarz // *J. Clin. Periodontol.* – 2008. – Vol. 35, № 8. – P. 106-116.
285. Shepherd J. H. Substituted hydroxyapatites for bone repair / J. H. Shepherd, D. V. Shepherd, S. M. Best // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2012. – Vol. 23, № 10. – P. 2335-2347.
286. Shue L. Biomaterials for periodontal regeneration: a review of ceramics and polymers / L. Shue, Z. Yufeng, U. Mony // *Biomatter*. – 2012. – Vol. 2, № 4. – P. 271-277.



287. Silness J. Periodontal disease in pregnancy / J. Silness, H. L oe // *Acta Odontol Scand.* – 1964. – Vol. 22. – P. 121-135.
288. Silver S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds / S. Silver // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2003. – Vol. 27, № 2-3. – P. 341-353.
289. Slots J. Periodontology: past, present, perspectives / J. Slots // *Periodontol.* 2000. – 2013. – Vol. 62, № 1. – P. 7-19.
290. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies / D. D. M. Ehrenfest, G. M. de Peppo, P. Doglioli, G. Sammartino // *Growth Factors.* – 2009. – Vol. 27, № 1 – P. 63-69.
291. Smieszec-Wilczewska J. Comparison of postoperation bone defects of alveolar processes of maxilla and mandible with the use of Bio-Gen and Bio-oss / J. Smieszec-Wilczewska, R. Koszowski, J. Pajak // *J. Clin. Exp.dent.* – 2010. – Vol. 2, № 2. – P. 60-66.
292. Song J. A chemical and engineering approach towards "smart" synthetic bone grafts / J. Song // *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* – 2007. – Vol. 7, № 4. – P. 325.
293. Soni I. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria / I. Soni, B. Salopek-Bondi // *J. Colloid Interface Sci.* – 2004. – Vol. 27. – P. 70-82.
294. Squier C. A. Ultrastructure of the periosteum from membrane bone / C. A. Squier, S. Ghoneim, C. R. Kremenak // *J. Anat.* – 1990. – Vol. 171. – P. 233-239.
295. Structural properties of silver doped hydroxyapatite and their biocompatibility / C. S. Ciobanu, S. L. Iconaru, I. Pasuk [et al.] // *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* – 2013. – Vol. 33(3). – P. 1395-1402.
296. Studies of the CuO bond in cupric oxide by X-ray photoelectron spectroscopy and ab initio electronic structure models / F. Parmigiani, G. Pacchioni, F. Illas, P. S. Bagus // *J Electron Spectrosc Relat Phenom.* – 1992. – Vol. 59. – P. 255-269.

297. Subbaiah R. Efficacy of a bioactive alloplast, in the treatment of human periodontal osseous defects-a clinical study / R. Subbaiah, B. Thomas // *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* – 2011. – Vol. 16, № 2. – P. 239-344.
298. Susin C. Regenerative periodontal therapy: 30 years of lessons learned and unlearned / C. Susin, U. M. Wikesjö // *Periodontol.* 2000. – 2013. – Vol. 62, № 1. – P. 232-242.
299. Sustained delivery of BMP-2 enhanced osteoblastic differentiation of BMSCs based on surface hydroxyapatite nanostructure in chitosan-HAp scaffold / G. Wang, J. Qiu, L. Zheng [et al.] // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* – 2014. – № 28. – P. 1-15.
300. Synthesis of antimicrobial monophasic silver-doped hydroxyapatite nanopowders for bone tissue engineering / V. Stanic, D. Janackovic, S. Dimitrijevic [et al.] // *Appl. Surf. Sci.* – 2011. – Vol. 257, № 9 – P. 4510-4518.
301. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders / V. Stanic, S. Dimitrijevic, J. Antic-Stankovic [et al.] // *Appl. Surf. Sci.* – 2010. – Vol. 256, № 20 – P. 6083-6089.
302. Ten-year results following treatment of intra-bony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration // A. Sculean, A. Kiss, A. Miliauskaite [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2008. – Vol. 35, № 9. – P. 817-824.
303. The biodegradation of hydroxyapatite bone graft substitutes in vivo / E. Rumpel, E. Wolf, E. Kauschke [et al.] // *Folia Morphol. (Warsz.)*. – 2006. – Vol. 65, № 1. – P. 43-48.
304. The contribution of platelet-derived growth factor, transforming growth factor- $\beta$ 1, and insulin-like growth factor-I in platelet-rich plasma to the proliferation of osteoblast-like cells / Y. Ogino, Y. Ayukawa, T. Kukita, K. Koyano // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. – 2006. – Vol. 101, № 6. – P. 724-729.
305. The dynamics of microbial colonization of barrier membranes for guided tissue regeneration / H. Nowzari, E. S. MacDonald, J. Flynn [et al.] // *J. Periodontol.* – 1996. – Vol. 67, № 7. – P. 694-702.

306. The effect of Cu(II)-loaded brushite scaffolds on growth and activity of osteoblastic cells / A. Ewald, C. Käppel, E. Vorndran [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2012. – Vol. 100, № 9. – P. 2392-2400.
307. The effect of strontium incorporation in hydroxyapatite on osteoblasts in vitro / G. X. Ni, Z. P. Yao, G. T. Huang [et al.] // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2011. – Vol. 22, № 4. – P. 961-967.
308. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects / M. A. Reynolds, M. E. Aichelmann-Reidy, G. L. Branch-Mays, J. C. Gunsolley // *Am. Periodontol.* – 2003. – Vol. 8, № 1. – P. 227-265.
309. The role of growth factors in periodontal and pulpal regeneration / P. M. Bartold, A. M. Clayden, J. Gao [et al.] // *J. N. Z. Soc. Periodontol.* – 1998. – Vol. 83. – 7-14.
310. The significance of coronal growth of periodontal ligament tissue for new attachment formation / F. Isidor, T. Karring, S. Nyman [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 1986. – Vol. 13, № 2. – P. 145-150.
311. The stimulation of angiogenesis and collagen deposition by copper / C. Gerard, L. J. Bordeleau, J. Barralet, C. J. Doillon // *Biomaterials.* – 2010. – Vol. 31, № 5. – P. 824-831.
312. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane / D. D. M. Ehrenfest, M. Del Corso, A. Diss [et al.] // *J. Periodontol.* – 2010. – Vol. 81. – P. 546-555.
313. Topical and systemic antimicrobial therapy in guided tissue regeneration / G. Zucchelli, N. M. Sforza, C. Clauser [et al.] // *J. Periodontol.* – 1999. – Vol. 70, № 3. – P. 239-247.
314. Total proteoglycan and chondroitin-4-sulfate levels in gingiva of patients with various types of periodontitis / S. Vardar, H. Baylas, F. Zihnioglu [et al.] // *J. Periodontol.* – 2004. – Vol. 75, № 3. – P. 393-398.
315. Toxicity and antibacterial assessment of chitosan-coated silver nanoparticles on human pathogens and macrophage cells / P. Jena, S. Mohanty, R. Mallick [et al.] // *Int. J. Nanomedicine.* – 2012. – Vol. 7. – P. 1805-1818.

316. Ulyanova T. M. Structure and properties of ceramic grafting material / T. M. Ulyanova, L. V. Titova, V. L. Evtukhov // Engineering of biomaterials. – Krakow, 2007. – P. 4-5.
317. Verardi S. The use of a membrane and/or a bone graft may not improve the effects of enamel matrix derivatives in infrabony defects / S. Verardi // J. Evid. Based Dent. Pract. – 2012. – Vol. 12, № 3 (Suppl.). – P. 127-128.
318. Waddington R. J. Structural characterization of human alveolar bone proteoglycans / R. J. Waddington, G. Embery // Arch Oral Biol. – 1991. – Vol. 36, № 12. – P. 859-866.
319. Wang J. Nanocrystalline hydroxyapatite with simultaneous enhancements in hardness and toughness / J. Wang, L. L. Shaw // Biomaterials. – 2009. – Vol. 30, № 34. – P. 6565-6572.