

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

На правах рукопису

ТКАЧ ОКСАНА БОРИСІВНА

УДК 616.311 – 002.44/.446 – 085..615.246.2

**Експериментально-клінічне обґрунтування застосування
мукозального гелю, модифікованого наночастинками золота, в
комплексному лікуванні генералізованого пародонтита.**

14.01.22 – стоматологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Науковий керівник:

БОРИСЕНКО Анатолій Васильович

доктор медичних наук, професор

КИЇВ 2018

АНОТАЦІЯ

Ткач О.Б. «Розробка та обґрунтування застосування мукозального гелю з нанозолотом в комплексному лікуванні захворювань пародонта». – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.22 «Стоматологія». – Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ, 2018.

Для лікування захворювань пародонта широко використовують різноманітні антибактеріальні засоби. Проте можливості багатьох антибактеріальних та протизапальних препаратів обмежені внаслідок швидкого звикання до них пародонтопатогенної мікрофлори.

Для розробки нових антибактеріальних засобів перспективним є застосування нанотехнологій з використанням наночасточок металів, що мають антибактеріальні властивості, зокрема наночасточок золота і срібла.

Наночасточки золота мають низку унікальних властивостей: міцність, значна площа поверхні, оптичні властивості що може сприяти посиленню сигналу при проведенні імуноферментного аналізу за рахунок їх зв'язування з антитілами.

Враховуючи це наночасточки золота і срібла можуть бути використаними для лікування захворювань пародонта.

Мета дослідження.

Завдання дослідження.

1. Визначити антибактеріальну дію препаратів з наночасточками срібла і золота на стандартні штами та змішану мікрофлору пародонтальних кишень.
2. Обґрунтувати рецептуру та розробити медикаментозну форму комплексного препарату-пародонтопротектора пролонгованої дії «Нанозолото» для місцевого лікування хворих із запальними захворюваннями пародонта.

3. При моделюванні у тварин експериментального пародонтиту за допомогою біохімічного дослідження визначити лікувально-профілактичну дію препаратів з наночастинками золота.

4. В експерименті на тваринах визначити токсичну, подразнювальну, та сенсibiliзувальну дію мукозального гелю «Нанозолото».

5. Визначити клінічну ефективність комплексного препарату - мукозального гелю «Нанозолото» при лікуванні хворих на генералізований пародонтит I ступеня.

В ході дослідження використовували наступні методи дослідження: мікробіологічні (визначення антибактеріальної дії препаратів), біохімічні (визначення впливу препаратів з наночастинками Au і Ag на запальний процес в пародонті), експериментальні (моделювання експериментального пародонтиту), клінічні (для визначення клінічної ефективності препарату з наночастинками), статистичні – для виявлення достовірності отриманих результатів.

На першому етапі дослідження на базі кафедри мікробіології НМУ були визначені антибактеріальні властивості наночастинками золота і срібла на референтні тестові штами мікроорганізмів та змішану мікрофлору пародонтальних кишень. Отримані результати проведених мікробіологічних досліджень показали, що практично всі зразки, в тій чи іншій мірі володіють хорошою антимікробною активністю, як на референтні тестові штами мікроорганізмів, так і змішану мікрофлору пародонтальних кишень.

На другому етапі експериментальних досліджень було проведено визначення токсичності та оцінка сенсibiliзувальної дії мукозального гелю «Нанозолото».

Було показано, що при нанесенні препарату на шкіру та при уведенні у шлунок: не спостерігалось будь-яких патологічних змін; не виявлено відхилень від нормального фізіологічного стану тварин; поведінкових реакцій; а також стану шерсті, шкіри, слизових оболонок; не виявлено змін у прирості маси тіла, маси підшлункової залози і під'язикових слинних

залоз. Дослідження периферійної крові не виявило змін гематологічних показників. Показано відсутність подразнювальної та сенсibiliзувальної дії.

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що гель «Нанозолото» не спричиняє токсичної та сенсibiliзувальної дії на організм та слизову оболонку порожнини рота експериментальних тварин.

На третьому етапі експериментальних досліджень був визначений вплив гелю «Нанозолото» на тканини пародонта експериментальних тварин у разі моделювання протамінової моделі експериментального пародонтиту.

Отриманні результати показали - ступінь дисбіозу ясен у щурів з пародонтитом зростає більш ніж в 3рази і достовірно знижується після аплікацій гелів з наночастинками золота майже до норми. Аплікації гелю з нанозолотом достовірно знижують рівень маркерів запалення: еластази та МДА, збільшують рівень антиоксидантного ферменту каталази, гіалуронової кислоти та індекс мінералізації. Це забезпечує протизапальну дію гелю.

Проведені доклінічні експериментальні дослідження мукозального гелю показали його виражений терапевтичний ефект при експериментальному пародонтиті, внаслідок наявності у нього антибактеріальних, антидисбіотичних, протизапальних, антиоксидантних властивостей.

На основі проведених біохімічних досліджень впливу препаратів з наночасточками Au і Ag на запальний процес в пародонті піддослідних щурів був запропонований склад мукозального гелю «Нанозолото».

Клінічні дослідження були проведені на групі з 79 хворих на генералізований пародонтит I ступеня хронічного та загостреного перебігу. В основній групі хворих в якості антибактеріальних засобів був використаний мукозальний гель «Нанозолото». Всім хворим було проведено комплексне обстеження стану тканин пародонта до та після лікування.

Показник індексу ОНІ-S, в кінці курсу лікування, знизився в 6,17 раз («хороша» гігієна порожнини рота), що в 1,5 рази < порівняно з групою порівняння.

Після застосування мукозального гелю «Нанозолото» відбулося зниження індексу РМА в 5,7 рази порівняно з початковим рівнем. В групі порівняння аналогічний показник РМА знизився лише в 3,26 рази. Після завершення курсу лікування середній показник індексу РМА в основній та групі порівняння знизився ще в 2 рази – до 0,11 та 0,18 балів відповідно (або до значень індексу РМА до 11% та 18%).

До лікування коефіцієнт кровоточивості в основній групі становив 22,7% та 20,9% в групі порівняння («значна» кровоточивість в обох групах). Після закінчення курсу лікування рівень індексу кровоточивості знизився в основній групі в 2,3 рази - до 0,16 бала, в групі порівняння він знизився до 0,23 бала.

Аналогічні сприятливі результати лікування зберігаються і у віддалені терміни через 6-12 місяців.

В результаті проведеного аналізу клінічних та індексних показників стану тканин пародонта після лікування генералізованого пародонтиту через 12 місяців можна зробити заключення про те, що ефективність лікування генералізованого пародонтиту в основній групі в 2 рази вище, ніж в групі порівняння. Сприятливі клінічні результати лікування фітогелем «Нанозолото» через 2 міс після початку лікування були підтверджені біохімічними дослідженнями. Після закінчення лікування стабілізація дистрофічно-запального процесу в пародонті відмічена у всіх 100,0% пацієнтів основної групи та 11 (91,67%) пацієнтів групи порівняння.

Таким чином, застосування мукозального гелю «Нанозолото» в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту приводило до стійкого клінічного ефекту у найближчі та віддалені терміни спостережень.

Наукова новизна одержаних результатів. Для профілактики та лікування генералізованого пародонтиту розроблений та апробований в експерименті мукозальний гель «Нанозолото», до складу якого входять: мукозальний 3 %- гель натрієвої солі карбоксиметилцелюлози (КМЦ), що містить 5 % силікагелю з включенням 500 мкг/г наночасток золота розміром 5 нм.

Вперше експериментальними дослідженнями на лабораторних тваринах показано відсутність у мукозо-адгезивного гелю «Нанозолото» негативного впливу на гематологічні показники та активність деяких тканинспецифічних ферментів у сироватці крові лабораторних тварин, гострої та хронічної токсичності при нанесенні на шкіру та уведенні в шлунок, подразнювальної дії гелю на слизову оболонку порожнини рота і сенсibiliзувальної дії.

Вперше мікробіологічними дослідженнями показано, що всі зразки силікагелей з наночастинками срібла і золота мають певною мірою виражену антибактеріальну активність, як на референтні тестові штами мікроорганізмів, так і на змішану мікробну флору корневих каналів та пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

Вперше при відтворенні експериментального запалення слизової оболонки рота і ясен у лабораторних тварин показано, що аплікації гелю з наночастинками золота чи срібла зменшують підвищений при запаленні рівень активності біохімічних маркерів запалення (еластази, катализа, вміст малонового діальдегіду, каталази, антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) і, таким чином, справляють протизапальну та антиоксидантну дію.

Експериментальними дослідженнями при моделюванні у щурів протамінового пародонтиту показано, що аплікації гелю з наночастинками золота чи срібла майже вдвічі знижують ступінь дисбіозу, підвищують антидисбіотичну, протизапальну і антиоксидантну дію мукозо-адгезивного гелю стосовно тканин пародонта і слизової оболонки порожнини рота.

Клініко-лабораторними дослідженнями у віддалені (6 місяців) терміни спостережень показано, що у разі застосування мукозо-адгезивного гелю «Нанозолото» в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит досягнуті задовільні клінічні, рентгенологічні та лабораторні результати практично на рівні застосованих вискоефективних препаратів порівняння.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблений, експериментально обґрунтований та рекомендований до застосування в

клінічній практиці новий метод комплексного лікування захворювань пародонта із застосуванням мукозального гелю «Нанозолото» що має антимікробну, антидисбіотичну, протизапальну та антиоксидантну дію на тканини пародонта.

Ключові слова: наночасточки золота і срібла, мікрофлора, експериментальний пародонтит, запальні захворювання пародонта.

SUMMARY

Tkach O. B. "The development and substantiation of the use of mucosal gel with nanogold in the complex treatment of periodontal diseases." - Qualifying research thesis on the rights of manuscripts.

Thesis for a candidate degree in medical sciences (PhD) in specialty 14.01.22 "Dentistry". - National O.O. Bogomolets Medical University of Ukraine, Kyiv, 2018.

Different antibacterial medications are widely used in treatment of periodontal diseases. However, the possibilities of many antibacterial and anti-inflammatory medications are limited due to the rapid adaptation to them of parodontopathogenic microflora.

The using of nanotechnologies with nanoparticles of metals with antibacterial properties, especially nanoparticles of gold and silver, are perspective for development of new antibacterial medications.

Nanoparticles of gold have a number of unique properties: strength, significant surface area, optical properties that can enhance signal strength during immunoassay analysis due to their bonding with antibodies.

Due to this, nanoparticles of gold and silver can be used in treatment of periodontal diseases.

The aim of the study.

Increasing the effectiveness of periodontal diseases treatment by experimental substantiation of silver and gold nanoparticles usage and the development of possible forms of medications, containing these metals nanoparticles.

Task of the investigation.

1. To determine the antibacterial effect of medications with silver and gold nanoparticles on standard microorganisms strains and mixed microflora of periodontal pockets.

2. To substantiate the formulation and to develop a medical form of the complex medication with protective prolonged effect for periodontal tissues of "Nanogold" for the local treatment of patients with inflammatory periodontal diseases.

3. To determine the medical and preventive effect of medications with gold nanoparticles with the help of biochemical research in modeling of experimental periodontitis in animals.

4. To determine the toxic, irritating, and sensitizing effects of mucosal gel "Nanogold" in the animal experiment.

5. Determine the clinical effectiveness of the complex drug - mucosal gel "Nanozolot" in the treatment of patients with generalized periodontitis I degree.

In the course of the study, the following methods of investigation were used: microbiological (determination of antibacterial effect of medications), biochemical (determination of the effect of medications with nanoparticles Au and Ag on the inflammation in periodontal tissues), experimental (experimental periodontitis modeling), clinical (determination of the clinical efficacy of the medications with nanoparticles), statistical – determination of the results reliability.

At the first stage of the study, the antibacterial properties of gold and silver nanoparticles on the reference test strains of microorganisms and the mixed microflora of periodontal pockets were determined on the basis of the Department of Microbiology of NMU. The got results of microbiological researches showed that practically all samples, to varying degrees, have good antimicrobial activity, both on the reference test strains of microorganisms, and in the mixed microflora of periodontal pockets.

At the second stage of experimental studies, toxicity evaluation and estimation of the sensitizing effect of mucosal gel "Nanogold" were conducted.

It has been shown that applying of the medication to the skin and introduction into the stomach do not cause pathological changes and deviations from the normal physiological state of animals, behavioral reactions and also condition of wool, skin, mucous membranes, no changes in increase in body weight, mass of the pancreas and sublingual salivary glands. The peripheral blood test didn't reveal changes in hematological parameters. The absence of irritating and sensitizing effects was shown.

Thus, the conducted studies indicate that the gel "Nanogold" doesn't cause toxic and sensitizing effects on the organism and on the oral mucosa of experimental animals.

In the third stage of experimental studies, the effect of the gel "Nanogold" on the periodontal tissues of the experimental animals was determined in the case of the protamine modeling of experimental periodontitis.

The results showed that the degree of gingival dysbiosis in rats with periodontitis increased in more than 3 times and was significantly reduced after application of gels with gold nanoparticles almost to normal. Application of gel with nanosilver significantly reduce the level of markers of inflammation: elastase and MDA, increase the level of antioxidant enzymes catalase, hyaluronic acid and mineralization index. This provides anti-inflammatory action of the gel.

The performed preclinical experimental studies of mucosal gel showed its pronounced therapeutic effect in experimental periodontitis, due to its antibacterial, anti-dysbiotic, anti-inflammatory, antioxidant effects.

On the basis of conducted biochemical studies of the influence of medications with nanoparticles of Au and Ag on the periodontal tissues inflammation of the experimental rats, the composition of the mucosal gel "Nanogold" was proposed.

Clinical studies were conducted in a group of 79 patients with generalized periodontitis I degree, chronic and exacerbative course. The mucosal gel "Nanogold" as antibacterial medication was used in the main group of patients. The complex examination of the condition of periodontal tissues was performed for all patients before and after treatment.

The index of OHI-S at the end of the course of treatment was decreased by 6.17 times ("good" oral hygiene), which is 1.5 times more than in the comparative group.

After use of mucosal gel "Nanogold", the index of PMA was decreased by 5.7 times compared to the initial level. In the comparative group, the index of PMA decreased only in 3.26 times. In the end of the course of treatment, the average index of the PMA in the main and in the comparative groups of the study were decreased by 2 times more – to 0.11 and 0.18 points, respectively (or to the PMA index 11% and 18%).

Before treatment, the bleeding index in the main group of the study was 22.7% and in the comparative group – 20.9% ("significant" bleeding in both groups). In the end of the course of treatment, the level of the index of bleeding decreased in the main group by 2.3 times – to 0.16 points, in the comparative group it dropped to 0.23 points.

Similar favorable treatment results persist in the long term in 6-12 months.

As a result of the analysis of clinical and index research of the condition of periodontal tissues after the treatment of generalized periodontitis in 12 months it can be concluded that the effectiveness of treatment of generalized periodontitis in the main group is 2 times higher than in the comparative group. Favorable clinical results of treatment with phytogel "Nanogold" 2 months after the start of treatment were confirmed by biochemical studies. After the treatment, the stabilization of the dystrophic-inflammatory process in periodontal tissues was established in all 100.0% of patients in the main group and 11 (91.67%) patients in the comparative group.

Thus, the use of mucosal gel "Nanzolot" in the complex treatment of generalized periodontitis led to a steady clinical effect in the immediate and long-term observation time.

Scientific novelty of the obtained results. For the prevention and treatment of generalized periodontitis, the mucosal gel "Nanogold" has been developed and tested in the experiment, which consists of: mucosal 3% - gel sodium carboxymethyl

cellulose (CMC) containing 5% silica gel with the inclusion of 500 mg / g nanoparticles of gold in the size of 5 nm .

For the first time, experimental studies on laboratory animals showed the absence of negative effect of the mucoso-adhesive gel "Nanogold" on hematological parameters and the activity of some tissue-specific enzymes in blood serum of laboratory animals, acute and chronic toxicity after applying to the skin and introduction into the stomach, irritant action of the gel on the oral mucosa and sensitizing effect.

For the first time, microbiological studies have shown that all samples of silica gels with nanoparticles of silver and gold have a pronounced antibacterial activity both on the reference test strains of microorganisms and on the mixed microflora of the root canals and periodontal pockets of patients with generalized periodontitis.

For the first time, in reproduction of experimental inflammation of the oral mucosa and gingiva in laboratory animals, it has been shown that the application of a gel with nanoparticles of gold or silver reduces the level of activity of biochemical markers of inflammation (elastase, catalysis, malondialdehyde content, catalase, antioxidant-prooxidant index (API) and thus produce anti-inflammatory and antioxidant effects.

Experimental studies in modeling in rats of prominent periodontitis have shown that the application of gel with nanoparticles of gold or silver almost reduce the degree of dysbiosis, increase the anti-dysbiotic, anti-inflammatory and antioxidant activity of mucoso-adhesive gel in periodontal tissues and oral mucosa.

Clinical and laboratory studies in the remote terms of the study (6 months) have shown satisfactory clinical, radiological and laboratory results in the case of the mucoso-adhesive gel "Nanogold" use in the complex treatment of patients with generalized periodontitis, comparing with the use of highly effective medications.

The practical value of the results. The new method of complex treatment of periodontal diseases with the use of mucosal gel "Nanogold" with antimicrobial, anti-dysbiotic, anti-inflammatory and antioxidant effects on periodontal tissues, was

developed, experimentally substantiated and recommended for use in clinical practice.

Key words: nanoparticles of gold and silver, microflora, experimental periodontitis, inflammatory periodontal diseases.

Список публікацій:

1. А.В.Борисенко, Ткач О.Б., О.М. Волощук Мікробіологічне обґрунтування застосування наночасточок золота та срібла для лікування періодонтитів.// Науковий вісник Національного медичного університету ім.О.О.Богомольця, - №2. – 2012. С. 21 – 25
2. А.В.Борисенко, Ткач О.Б., О.М. Волощук Вивчення впливу препаратів наночасточок золота на умовно патогенну мікрофлору кореневого каналу. // Современная стоматология - №1. – 2013 С. – 11 – 14
3. А.В.Борисенко, А.П. Левицький, Ткач О.Б. Влияние оральных аппликаций силикагеля, содержащего наночастицы золота или серебра, на степень дисбиоза десны крыс после воздействия липополисахарида. // Вісник стоматології. - №3. – 2013 С. 2-4
4. Ткач О.Б., А.К.Трохимчук, А.П. Левицький Биохимические маркеры воспаления и антиоксидантной защиты в тканях полости рта крыс при воздействии липополисахарида и наночастиц золота и серебра. // Вісник морської медицини. – №3. С. 60 – 64
5. Ткач О.Б. Влияние гелей с наночастицами золота или серебра на степень дисбиоза слизистой оболочки щеки крыс после воздействия липополисахарида. // Вісник стоматології. - №4. – 2013 С. 2 – 5
6. А.В.Борисенко, А.П. Левицький, Ткач О.Б. Экспериментальное обоснование применения препаратов нанозолота для лечения заболеваний пародонта. // Стоматолог практик - №1. – 2014. С. 58-62
7. A.V. Borysenko, O.V. Lynovytska, Tkach O.B. Influence of silicagel containing gold and silver nanoparticles on the biochemical indices of experimentally-induced inflammation of oral mucosa. // International Journal of Medical Dentistry. Volume 4. Issue 2. – 2014 P. 80 – 87

8. А.В.Борисенко, А.П. Левицький, Ткач О.Б. Лечебно профилактическое действие геля с нанозолотом при экспериментально пародонтите // Актуальные проблемы транспортной медицины. – №3. – 2014 С. 91 – 96
9. Антоненко М.Б., Ткач О.Б. Лечебное действие орального фитогеля «Нанозолото» при хроническом генерализованом пародонтите. // Вісник стоматології, №4, 2014 – С. 1-4
- 10.Ткач О.Б., Левицький А.П. Експериментальне визначення токсичності та оцінка сенсibiliзуючої дії муозального гелю «Нанозолото» // Український журнал медицини, біології та спорту - №2 - 2015 С. 203 – 207
- 11.А.В.Борисенко, О.Б.Ткач Порівняльне вивчення протимікробної активності силікагелю з наночастинками золота та антисептиків різних груп відносно мікрофлори пародонтальних кишень. // Современная стоматология №2 – 2016 – С.29 - 32
- 12.Ткач О.Б., О.М. Волощук Мікробіологічне обґрунтування застосування наночасточок золота та срібла для лікування запальних захворювань тканин пародонту.// Современная стоматология - №3 - 2016 С. 22 - 24
- 13.A.V. Borysenko, O. V. Lynovytska, O.B. Tkach, S. I. Palamarchuk Influence of silica gel, containing nanoparticles of gold and silver, on the biochemical indices of the experimental inflammation of oral mucosa // International Journal of Medical Dentistry. Volume 6 • Issue 3 July / September 2016P. 163 – 170
- 14.А.В.Борисенко, А.П. Левицький, Ткач О.Б. Экспериментальное обоснование применения препаратов нанозолота для лечения заболеваний пародонта. // Современная медицина: актуальные вопросы Сборник статей по материалам XXXII международной научно-практической конференции. - №6. – 2014 С. 50 – 65.

ЗМІСТ	
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	18
ВСТУП	19
РОЗДІЛ 1 ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ПАРОДОНТА (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	26
1.1 Основні чинники етіології та патогенезу захворювань пародонта	26
1.2 Сучасні погляди на медикаментозну терапію терапію в комплексному лікуванні захворювань пародонта (генералізованого пародонтиту)	30
1.3 Перспективи застосування препаратів на основі нанотехнологій в медицині	35
1.4 Застосування мукозо-адгезивних гелів у стоматології	41
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	44
2.1 Організація і загальна характеристика проведених досліджень	44
2.2 Дизайн дослідження	45
2.2.1 Мікробіологічні дослідження	45
2.2.2 Експериментальні дослідження	47
2.2.3 Клінічні дослідження	48
2.2.4 Методи статистичної обробки результатів досліджень	51
2.3 Методи досліджень	52
2.3.1 Дослідження антибактеріальних властивостей високодисперсного силікагелю з наночастинками золота	52
2.3.2 Експериментальні дослідження	53
2.3.3 Клінічна оцінка стану пародонта	60
2.3.4 Біохімічні дослідження	63
2.4 Фармакологічна характеристика складових композиції	65

мукозального гелю модифікованого наночастинками золота	
2.4.1 Склад, структура та якості силікагелів з наночастинками благородних металів	65
2.4.2 Мукозальні гелі – склад, механізм дії, переваги застосування	72
2.4.3 . Розробка рецептури мукозального гелю «Нанозолото»	75
2.5 Методика лікування	76
РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ ЛІКУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ МУКОЗАЛЬНОГО ГЕЛЮ МОДИФІКОВАНОГО НАНОЧАСТИНКАМИ ЗОЛОТА	79
3.1. Дослідження антибактеріальної активності високодисперсного силікагелю з наночастинками золота	79
3.1.1 Вивчення <i>in vitro</i> антимікробних властивостей високодисперсних гелів, що містять на своїй поверхні наночастинки золота	79
3.1.2 Порівняльне вивчення протимікробної активності силікагелю з наночастинками золота та антисептиків різних груп відносно тест-мікроорганізмів та змішаної мікрофлори з вогнищ запалення тканин пародонта	86
3.2. Дослідження токсико-гігієнічних властивостей композиції мукозального гелю, модифікованого наночастинками золота	93
3.2.1. Дослідження гострої та підгострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» при нанесенні на шкіру	93
3.2.2. Дослідження гострої та підгострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» при введенні в шлунок	93

3.2.3.	Дослідження шкірно-подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото»	96
3.2.4.	Дослідження подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото» на слизову оболонку порожнини рота	96
3.2.5.	Дослідження сенсibiliзувальної дії	97
3.3	Оцінка терапевтичної активності композиції мукозального гелю, модифікованого наночастинками золота в умовах експериментального моделювання пародонтиту	98
3.3.1.	Біохімічні маркери запалення і антиоксидантного захисту в тканинах порожнини рота щурів при дії ліпополісахариду і наночасточок золота	98
3.3.2.	Вплив оральних аплікацій силікагелю, що містить наночастинки золота, на ступінь дисбіозу ясен щурів після дії ліпополісахариду	103
3.3.3	Експериментальне обґрунтування застосування препаратів нанозолота для лікування захворювань пародонта	108
РОЗДІЛ 4 ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ МУКО ЗАЛЬНОГО ГЕЛЮ «НАНОЗОЛОТО» В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ		120
4.1.	Клінічна оцінка ефективності лікування хворих генералізованим пародонтитом І ступеня хронічного перебігу	121
4.1.1.	Індексна оцінка стану пародонта в динаміці лікування хворих на генералізований пародонтит І ступеня	122
4.1.2	Віддалені результати лікування хворих на генералізований пародонтит І ступеня	130
4.2	Біохімічна оцінка стану пародонта в динаміці лікування хворих на генералізований пародонтит І ступеня хронічного перебігу	134

РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	153
ВИСНОВКИ ТА ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	166
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	170

УМОВНІ СКОРОЧЕННЯ

ГП Іст – генералізований пародонтит І ступеня хронічного перебігу

ХМК - хімічно-модифікований кремнезем

КС - клітинна стінка

БМ - благородний метал

МПА - м'ясо-пептонний агар

МДА - малоновий діальдегід

ТБК - тіобарбітурова кислота

АПІ - антиоксидантно-прооксидантний індекс

ЛПС - ліпополісахарид

ЛМ - лізомукоїд

СОПР - слизова оболонка порожнини рота

КМЦ - карбоксиметилцелюлоза

ЛФ - лужна фосфатаза

КФи - кисла фосфатаза

ІМ - індекс мінералізації

П - пародонтит

ВДК - високодисперсні кремнеземи

ВСТУП

Актуальність теми

Генералізований пародонтит є найбільш поширеним стоматологічним захворюванням, прогресування якого призводить до втрати зубів і резорбції кісткової тканини альвеолярного відростка щелеп [9,20,150,151,362]. Внаслідок значної розповсюженості і труднощів лікування захворювання пародонта являють собою значну медичну та соціальну проблему [33,37,41]. Останніми роками спостерігається тенденція збільшення частоти захворювань пародонта серед осіб більш молодого віку [100,147,266,268,280].

Згідно з даними Всесвітньої Організації Охорони здоров'я (1990-2001) змінилася картина розповсюдження запальних захворювань пародонта серед працездатних груп населення [266,280]. Зокрема, у віковій групі 15-20 років запальні захворювання пародонта зустрічаються в різних регіонах від 55,0 % до 99,0%, а в групі віком 35-44 років цей показник коливається від 65,0% до 98,0%. Одночасно зростає і кількість так званого агресивного пародонтиту (І.В. Безрукова, 2000-2004) [15,16]. Останній має перебіг на тлі зміненого імунологічного статусу організму пацієнта [25,28,36,39,65,92,126].

Вважають, що в основі виникнення гінгівіту і пародонтиту лежить запальна реакція, яка виникає внаслідок патогенної дії мікроорганізмів [7,14,69,91,95,115]. Подальший розвиток запального процесу набуває хронічного характеру і призводить до деструкції зубоясенного з'єднання, періодонта, резорбції кістки альвеолярного відростка щелеп [89,143,144,145,146].

Лікування захворювань пародонта є актуальною проблемою [8,60,72]. Несвоєчасне лікування гінгівіту практично неминуче призводить до розвитку генералізованого пародонтиту. Відмічено причинний взаємозв'язок хвороб пародонта і різноманітних системних захворювань [279,307]. Ураження пародонта різко знижують якість життя пацієнтів [73,74,80]. Таким чином,

захворювання пародонта являють собою не тільки медичну, а й соціальну проблему [35,64,81,94].

Враховуючи складність і тривалість лікування захворювань пародонта, розробка та практичне впровадження ефективних методів їх профілактики [27,238,239,346] і лікування займає значне місце в численних вітчизняних і зарубіжних дослідженнях [166,167,190,191,194]. Для їх ефективного проведення велике значення має використання об'єктивних діагностичних даних, які дозволяють проводити ефективну профілактику, призначати адекватне раціональне лікування та оцінити їх ефективність [40,43,66,112,207,217,255].

На сьогоднішній день для лікування захворювань пародонта застосовують значну кількість різноманітних лікарських засобів. Вони мають певні небажані побічні ефекти, викликають сенсibilізацію організму, до них досить швидко звикає пародонтопатогенна мікрофлора [42,48,49,71,102,149]. Враховуючи це, продовжується пошук інших більш ефективних видів медикаментозних засобів [188].

Одним із нових, сучасних напрямів у розробці медикаментозних засобів є застосування нанотехнологій з використанням наночасточок металів, що мають антибактеріальні властивості [44,128,161,162,163,173,253,361]. Серед них найбільшу увагу привертає застосування наночасток золота і срібла [267,275,276,312,317,322,331]. Вони мають дуже маленькі розміри, тому можуть легко проникати в усі розгалуження кореневого каналу і дентинні трубочки [2,11,21]. Особливістю золота, срібла і інших наночасточок металів є те, що вони легко утворюють кластери і колоїди [77,117,192,193,223,224]. Ці кластери мають велику питому поверхню, що значно збільшує область контакту наночасточок металів з бактеріями або вірусами та підвищує їх бактерицидні властивості. Використання золота і срібла у вигляді наночасточок дозволяє в сотні разів знизити їх концентрацію зі збереженням усіх бактерицидних властивостей [267,324,359,363].

Наночастки золота сприяють посиленню сигналу при проведенні імуноферментного аналізу за рахунок їх зв'язування з антитілами [345]. Срібло, в свою чергу, є потужним імуномодулятором і, залежно від дози, може стимулювати чи пригнічувати фагоцитоз. Під впливом срібла підвищується кількість імуноглобулінів класів А, М, G, збільшується відсотковий вміст абсолютної кількості Т-лімфоцитів [187].

Ці властивості наночасточок золота і срібла можуть бути використані для лікування багатьох патологічних процесів, викликаних мікроорганізмами [97,98,170,180]. Безпосередньо в стоматології їх можна застосовувати для лікування захворювань пародонта, гнійних захворювань щелепно-лицьової ділянки тощо [2,11,44,128,168].

Враховуючи вищевикладене, актуальним є експериментальне обґрунтування можливостей застосування наночасточок золота і срібла для лікування захворювань пародонта і розробка медикаментозних препаратів, що містять дані наночасточки металів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота є ваговою частиною науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця виконаної згідно з планом 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 та завдання дослідження:

Мета дисертаційної роботи підвищення ефективності лікування захворювань пародонта шляхом експериментального обґрунтування використання наночасточок срібла і золота для лікування захворювань пародонта і розробки можливих форм медикаментозних препаратів, що містять дані наночасточки металів.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Обґрунтувати рецептуру та розробити медикаментозну форму комплексного препарату - пародонтопротектора пролонгованої дії (мукозального гелю) для місцевого лікування хворих із запальними захворюваннями пародонта.

2. В експериментах на тваринах визначити токсичність, шкірно-подразнювальну, подразнювальну та сенсibiliзувальну дію мукозального гелю «Нанозолото».

3. Визначити антибактеріальну дію препаратів з наночасточками срібла і золота на стандартні штами та змішану мікрофлору пародонтальних кишень і корневих каналів зубів з періодонтитом.

4. В умовах експерименту на тваринах при моделюванні в тварин експериментального пародонтиту за допомогою біохімічного дослідження визначити лікувально-профілактичну дію препаратів з наночасточками срібла і золота на тканини пародонта (ясна).

5. Визначити клінічну ефективність комплексного препарату - (мукозального гелю) при лікуванні хворих на генералізований пародонтит I ступеня хронічного перебігу.

Об'єкт дослідження - тканини пародонта експериментальних тварин при моделюванні експериментального пародонтиту, ротова рідина, препарати і мукозальний гель із наночасточками золота і срібла.

Предмет дослідження – вплив препаратів з наночасточками золота і срібла на запальний процес при моделюванні експериментального пародонтиту, їх антибактеріальна дія на змішану мікрофлору пародонтальних кишень.

Методи дослідження:

Експериментальні – моделювання експериментального пародонтиту; біохімічні - для визначення впливу препаратів з наночасточками золота і срібла на запальний процес в пародонті; мікробіологічні – для визначення антибактеріальної дії препаратів; клінічні – для визначення ефективності застосування мукозального гелю в лікуванні хворих на генералізований

пародонтит; статистичні методи дослідження – для виявлення достовірності отриманих результатів.

Наукова новизна отриманих результатів дослідження

Для профілактики та лікування захворювань пародонта розроблений та апробований в експериментах мукозальний гель «Нанозолото», до складу якого входять: мукозальний 3 %- гель натрієвої солі карбоксиметилцелюлози (КМЦ), що містить 5 % силікагелю з включенням 500 мкг/г наночасток золота розміром 5 нм. Для його створення уперше було використано наночастки золота розміром 5 нм, адсорбовані на поверхні силікагелю концентрацією 500 мкг/г, що пройшли температурну обробку при t 800⁰С (прожарений при 800⁰С силікагель незворотно втрачає здатність поглинати вологу і стає гідрофобним).

В експериментальних умовах на тваринах встановлена відсутність у розробленого мукозального гелю «Нанозолото» гострої та хронічної токсичності, негативного впливу на гематологічні показники, відсутність токсичної дії при тривалому уведенні, нешкідливість гелю, відсутність шкірно-подразнювальної дії, сенсibiliзувальної дії, морфологічних змін внутрішніх органів.

В експериментальних умовах на тваринах при моделюванні експериментального пародонтиту показано, що застосування мукозального гелю «Нанозолото» знижує ступінь дисбіозу, збільшує вміст гіалуронової кислоти і гальмує атрофію альвеолярного відростка щелеп.

Біохімічними дослідженнями (визначення маркерів запалення і антиоксидантного захисту) при експериментальному відтворенні пародонтиту у щурів показано виразну протизапальну дію застосування мукозального гелю «Нанозолото». Проведені дослідження показали, що в умовах патогенної дії ліпополісахариду аплікації мукозального гелю з наночастинками золота або срібла суттєво підвищують антидисбіотичну, протизапальну і антиоксидантну дію препарату лізомукоїду по відношенню до тканин пародонта і слизової оболонки порожнини рота.

Мікробіологічними дослідженнями показано виражені антибактеріальні властивості мукозального гелю «Нанозолото». Показано, що даний гель має виразну антибактеріальну активність стосовно музейних штамів мікроорганізмів, змішаної мікрофлори пародонтальних кишень та корневих каналів зубів з періодонтитом.

Клініко-лабораторними дослідженнями доведено високу ефективність застосування мукозального гелю «Нанозолото» в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит у найближчі та віддалені терміни спостережень.

Практична значимість отриманих результатів

Розроблений, адаптований та рекомендований до застосування в клінічній практиці новий препарат-пародонтопротектор (мукозальний гель «Нанозолото»), що має антимікробну, антидисбіотичну, протизапальну та антиоксидантну дію на тканини пародонта.

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, у тому числі 9 у вітчизняних фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 3 – в зарубіжних.

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 та його обсяг, визначено мету і завдання досліджень, наукову новизну, практичне значення отриманих результатів, сформульовані висновки та розроблені практичні рекомендації. Автор особисто виконав патентно-інформаційний пошук, вивчив та здійснив аналіз літературних джерел за визначеною темою, провів експериментальні та лабораторні дослідження, статистичний аналіз отриманих даних, узагальнення та аналіз результатів. Самостійно написані всі розділи дисертації та автореферат, наукові доповіді,

публікації. Спільно з науковим керівником сформульовані висновки роботи, забезпечено впровадження результатів роботи в клінічну практику та навчальний процес.

Мікробіологічні дослідження виконано спільно зі 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. Широбоков).

Експериментальні та біохімічні дослідження проведено автором разом зі співробітниками лабораторії біохімії та віварію ДУ «Інститут стоматології НАМН України» (завідуючий – член-кор. НААН України, д.біол.н., професор А.П. Левицький). Клініко-рентгенологічні дослідження проведені на кафедрі терапевтичної стоматології (зав. каф. – д.мед.н., професор А.В. Борисенко) Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Автор особисто приймав участь у розробці рецептури і в проведенні доклінічних досліджень мукозального гелю «Нанозолото», створеного під керівництвом доктора медичних наук, професора А.В.Борисенка, доктора біологічних наук, професора А.П.Левицького, доктора хімічних наук, старшого наукового співробітника кафедри неорганічної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка А.К. Трохимчука.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційного дослідження доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях Асоціації стоматологів України «Сучасні технології лікування та профілактики в практичній стоматології» (Київ, 2015) та XXXII международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные вопросы» (Новосибірськ, 2014)

Дисертаційну роботу апробовано на засіданні кафедри терапевтичної стоматології НМУ імені О. О. Богомольця, на засіданні апробаційної міжкафедральної ради "Стоматологія" та профільних кафедр стоматологічного факультету НМУ імені О. О. Богомольця.

Структура та обсяг дисертації

Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел. Повний обсяг дисертації становить 210 сторінок, основний текст роботи викладено на 170 сторінках. Робота ілюстрована 32 таблицями і 32 рисунками. Список джерел літератури містить 363 найменувань, з них – 100 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ПАРОДОНТА

1.1. Основні чинники етіології та патогенезу захворювань пародонта

Захворювання пародонта (запальні та дистрофічно-запальні) є найбільш розповсюдженими стоматологічними захворюваннями [85,93,118,119,165,172]. За даними різних авторів розповсюдженість запальних захворювань пародонта серед дорослого населення знаходиться в межах 98,99%, у дітей – 30-80% [100,147,266,268,280]. Зважаючи на певні труднощі лікування цих захворювань, ця проблема має не лише медичний, але й соціальний характер [35,64,81,94,314,330].

Генералізований пародонтит - це специфічний дистрофічно-запальний процес (судинно-нервова дистрофія тканин пародонта), який виникає внаслідок взаємодії різних екзогенних та ендогенних факторів [215,246,263,274,293,318].

Для цих захворювань характерний хронічний (роками) перебіг зі слабо вираженими симптомами. Це призводить до того, що пацієнти звертаються за допомогою лише за наявності виражених проявів ураження, зокрема, значної рухомості зубів [304]. Надалі відбувається втрата основних функцій пародонта та зубощелепної системи, що потребує спеціальних лікувальних та реабілітаційних заходів [196,243,314,343].

Складний патогенез захворювань пародонта потребує більш глибокого вивчення їх етіології та патогенезу [13,96,103,154,197,229,244,245,313,326]. Особливої уваги вимагають дослідження, які направлені на розкриття патогенетичних механізмів розвитку, розробку та обґрунтування застосування

нових лікарських засобів та методів лікування, які дозволять підвищити його ефективність [67,101,111,159,189,220].

У розвитку патологічних процесів в пародонті суттєве місце відводять місцевим (незадовільна гігієна порожнини рота, зубні відкладення [62,286], мікроорганізми [99,153,177,225,226,231,232,259,301,303,339], фактор механічного навантаження – травматична оклюзія з утворенням травматичних вузлів та супраконтактів [64,66,73,74], порушення оклюзії, артикуляції та функціонального навантаження, аномалії прикріплення вуздечок язика і губ, мілкий присінок порожнини рота, неякісні пломби в зубах, неякісні ортопедичні конструкції, зміни місцевої імунологічної реактивності [18,39,47,204,256,298]) і загальним факторам [59,104,110,155,208,273].

Доведено, що важлива роль у розвитку генералізованого пародонтиту належить ендогенним факторам – судинні порушення, мікроциркуляторні розлади, стан серцево-судинної [279] та нервової систем, травного каналу [29,], ендокринної системи, гіповітамінози, наявність у хворого загальносоматичних захворювань [108,269], зміни активності ферментних систем, порушення обміну речовин, нервово-трофічні розлади, гормональні дисфункції, імунологічні порушення [47,227,271,357]. Суттєвий вплив мають і вікові зміни [34,38,86].

На стан тканин пародонта також можуть впливати вагітність [121,128,353], статеве дозрівання[63,100,268,], ослаблення загального імунітету внаслідок хронічних запальних та інфекційних захворювань [335]. Застосування певних медикаментозних препаратів, таких як похідні гідантоїну, фіноптину, імунодепресанти, деякі гормональні та протизаплідні засоби також може викликати патологічні зміни в тканинах пародонта[53,56].

Основним фактором у виникненні генералізованого пародонтиту, на думку багатьох авторів, є екзогенний фактор – мікроорганізми зубної бляшки та пародонтальної кишені. В 1 мг цієї біоплівки міститься від 100 до 300 млн. мікроорганізмів. Вони та продукти їх життєдіяльності є основою зубної бляшки [7,14,69,225]. В нормі в порожнині рота існує збалансована система

мікроорганізми-макроорганізм, яку підтримують специфічні та неспецифічні фактори захисту. Внаслідок порушення балансу цієї системи в порожнині рота виникають різні патологічні процеси [47,69,313,283,113]. Однак, наявність зубної бляшки не завжди призводить до розвитку запальних змін. Це залежить від резистентності організму людини та тканин пародонта [14,18,301,313].

Умовно-патогенна мікрофлора порожнини рота є одним з етіологічних факторів виникнення карієсу; сприяє накопиченню в зубній бляшці імуносупресорів, протеолітичних ферментів, токсинів. Ці мікроорганізми справляють токсичну дію на тканини пародонта, а також здатні до інвазії, з подальшим розвитком його запалення [14,91,177].

Для виникнення захворювань пародонта важливо, що склад мікрофлори ясенної борозни суттєво відрізняється від інших ділянок порожнини рота. Тут переважають ниткоподібні і облигатно-анаеробні види бактерій, бактероїди, порфіромонади, дріжджоподібні гриби, найпростіші і мікоплазми. Крім типових бактерій, в порожнині рота також виявляють мікоплазми, хламідії, герпес-віруси, мікроби-еукаріоти: гриби (*Candida spp.*) і найпростіші (*Entamebae gingivalis*, *Trichomonas tenax*). Вони можуть активуватися в умовах антибактеріальної терапії, недостатності імунної системи і тяжких соматичних захворювань. Певну роль відводять дріжджоподібним грибам роду *Candida*, які в порожнині рота зустрічаються в невеликій кількості [7,29,53,99,225].

Зубна бляшка поступово насичується солями кальцію і перетворюється на зубний камінь. В експериментах за участю добровольців при низькому рівні гігієни порожнини рота було показано, що вже на четверту добу від початку утворення зубних бляшок виникає запальна реакція в прилеглих яснах. Подібні дослідження підкреслюють, що процес ураження пародонта може бути припинений і навіть отримати зворотний розвиток у разі ретельного видалення бляшок та подальшого контролю їх утворення [3,7,62].

На сьогоднішній день немає однозначної точки зору стосовно того, які мікроорганізми є основними в патогенезі захворювань пародонта внаслідок значної мінливості мікробного складу зубної бляшки. Велике значення

надається синергізму мікробів у патогенезі захворювань пародонта. Більшість пародонтопатогенних мікроорганізмів продукують екзотоксини і ферменти, такі як колагеназа, еластаза, фібринолізин, гіалуронідаза та ін. Ці біологічні продукти спричиняють значну пошкоджувальну дію на тканини пародонта [91].

Бактероїди виділяють летючі сірчані сполуки, які збільшують проникність слизової порожнини рота. Багато видів бактероїдів здатні продукувати ферменти, що інактивують антибіотики - β лактамазу, цефалоспориназу і пеніциліназу. Штами *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, виділені з ротової порожнини, продукують токсин, що індукує кісткову резорбцію. Бактерії цієї групи *in vitro* продукують різні ферменти агресії: колагеназу, гіалуронідазу, хондроїтінсульфатазу, гепаріназу, IgA-, IgG-, IgM- протеази, що дозволяє розглядати їх як найважливіших потенційних збудників одонтогенних інфекцій. Бактероїди, як правило, є домінуючою мікрофлорою в гнійному ексудаті при абсцесах, флегмонах, остеомієлітах щелепно-лицевої ділянки, вмісті пародонтальних кишень при пародонтиті та гінгівіті [107,259,339].

При порушенні динамічної рівноваги між мікроорганізмами і нормальною мікрофлорою порожнини рота під впливом різних причин відбуваються зміни в складі мікробіоценозів (дисбактеріоз) і поступово формується дисбіоз. При цьому зростає кількість умовно-патогенних мікроорганізмів, що приймають участь у розвитку захворювань пародонта. Припускають, що виникнення, ступінь тяжкості, а також інтенсивність розвитку захворювань пародонта залежать від якісного та кількісного складу мікрофлори [29].

Сучасні стандарти пародонтологічної допомоги припускають використання мікробіологічних тестів при агресивних і рецидивних формах пародонтиту [15,16,65]. Встановлення особливостей мікрофлори в патологічному вогнищі може стати основою для нових підходів до планування лікування і оцінки його результатів у пацієнтів з запальними захворюваннями пародонта. Це важливо також для вибору профілактичних засобів з селективною антибактеріальною дією [6,7,17,29,42,49].

Основними принципами лікування захворювань пародонта є комплексний вплив на різні ланки патологічного процесу [56,57,68,79,106,157,167,181,207,211]. Зокрема це передбачає застосування гігієнічних [3,83,199,203,221,222,316], медикаментозних [194,195,198,200, 201], ортопедичних, хірургічних [228,281,284,347], фізіотерапевтичних [24,78,82] та інших методів лікування [1,12,22,88,90,178].

Враховуючи подібний стан важливою проблемою є профілактика захворювань пародонта. Згідно з рекомендаціями ВООЗ профілактичні заходи необхідно проводити на рівні первинної, вторинної та третинної профілактики [142,238,239,341,346].

1.2. Сучасні погляди на медикаментозну терапію в комплексному лікуванні захворювань пародонта (генералізованого пародонтиту)

На думку деяких авторів, однією з провідних проблем є профілактика запальних захворювань пародонта. Профілактичні заходи, згідно з рекомендаціями ВОЗ, необхідно проводити на рівні первинної (повне запобігання виникнення захворювання), вторинної (запобігає подальшому розвитку захворювання) та третинної (запобігання ускладнень) профілактики [238,239,346]. Важливе місце займає індивідуальна гігієна порожнини рота [3,83,199,203,221,222,316].

Важливою ланкою лікування та профілактики генералізованого пародонтиту є медикаментозна терапія [194,195,198,200,201,289,292].

Для пригнічення та усунення чужорідних агентів існують різноманітні механізми. Шляхом синтезу різних класів імуноглобулінів, секреції лімфокінів відбуваються специфічні реакції організму на антиген («імунологічна реактивність»). Вони корпоративно взаємодіють з неспецифічними факторами захисту: ступінь проникності для патогенних мікроорганізмів шкіри та

слизових оболонок, присутність в біологічних рідинах ферментних систем – лізоцим, пропердин, β -лізин та інші [18,25,47,48].

Для отримання позитивних результатів лікування запальних захворювань пародонта необхідно усунути причинні чинники, ліквідувати збудників патологічних процесів, провести протизапальну терапію в комплексі з регуляцією імунологічної реактивності [25,47,195,270].

На сьогоднішній день більшість авторів надають особливого значення проведенню комплексного лікування запальних та дистрофічно-запальних захворювань пародонта з урахуванням індивідуальних особливостей патогенезу захворювання у кожного пацієнта [56,57,68,79,106,157,167,181, 207,211]. На початку лікування обов'язковим є усунення всіх місцевих причинних факторів, які спричиняють розвиток захворювання [3,83,203,152,221,222,316].

На думку багатьох авторів, основним етіопатогенним фактором у розвитку захворювань пародонта є патогенна мікрофлора та бактеріальні продукти їх життєдіяльності. Вони проникають у пародонт і викликають клітинну інфільтрацію та деструкцію його тканин [7,14,62,69,107,177]. Тому патогенетично обґрунтованим є включення в комплексну терапію різних груп антибактеріальних препаратів: антисептиків, антибіотиків та синтетичних хіміотерапевтичних препаратів [10,23,76,124,126,171,185].

Після усунення подразнювальних факторів застосовують антисептичні та антибактеріальні препарати у вигляді зрошень, ротових ванночок, аплікацій, інстиляцій, пов'язок [26,195]. Вони зменшують активність мікроорганізмів під'ясенної зубної бляшки. Більш глибоке проникнення в тканини пародонта можливе за допомогою фізичних засобів – електрофорез, іонофорез, магнітофорез та інші [24,82]. Найчастіше використовують 1% розчин перекису водню, 0,02% розчин фурациліну, 0,02% розчин етакридину лактату, 0,06% розчин хлоргексидину тощо [1,30,42,102,124,186,257,282].

При лікуванні захворювань пародонта найбільш ефективними є наступні антибіотики: еритроміцин, лінкоміцину гідрохлорид, кліндаміцин, тетрациклін, метацикліну гідрохлорид, доксацикліну гідрохлорид, амоксициклін,

амоксиклав, аугментин, азітроміцин, мідакамецин, рокситроміцин, кларитроміцин, фузидін-натрій, тощо. Антибіотики слід призначати украй обережно, за можливості визначивши чутливість мікроорганізмів до них [49,71,126,148,184,212,242].

Проте антибіотики мають певну побічну дію, можуть викликати анафілактичний шок, кандидоз, нефропатії і таке інше [17,149,183]. Окрім того, прийом майже всіх антибіотиків супроводжується пригніченням імунітету, порушенням нормальної мікрофлори кишківника та порожнини рота [23,25,36,47]. Тривалий безсистемний курс антибактеріальних препаратів спричиняє розвиток резистентних штамів, зниження ефективності лікування [235]. В більшості випадків антибактеріальні препарати мають короточасний ефект, що часто призводить до рецидиву захворювання після припинення лікування [242,257].

Протизапальні засоби є основним компонентом комплексної терапії захворювань пародонта, діють на різні патогенетичні ланки запалення, усуваючи прояви симптоматичного гінгівіту, пародонтальної кишені. Залежно від стадії процесу призначають в'язучі, ферментні, вітамінні, нестероїдні та стероїдні протизапальні засоби [10,23,40].

Популярності набули біополімерні плівки – «Диплен-Дента», які містять різні лікарські компоненти – «Х» - хлоргексидин, «М» - метронідазол, «Л» - лінкоміцин, «ЛХ» - хлоргексидин та лідокаїн; колагенвмісні препарати – «Гінгітек» з екстрактами трав, «Сангвікол» [12].

Широко застосовують нестероїдні протизапальні засоби: кеторолак (кеталгін, кетанов, кеорол), лорноксікам (ксефокам), кетапрофен (кетонал), індометацин (метиндол), диклофенак натрію (вольтарен, ортофен), мелоксикам (моваліс) тощо [10,23,40].

Застосування медикаментозних препаратів може призводити до виникнення непереносимості та резистентності захворювань пародонта, а також сенсibilізації організму. У зв'язку з цим в лікуванні захворювань тканин

пародонта перспективним є застосування препаратів рослинного походження [75,139,188,260].

Фітотерапія представлена широким спектром фітопрепаратів: настоянки та екстракти арніки, календули, шавлії, софори японської, ромашки, алтея, евкалипта, чистотілу, каланхое, подорожника, звіробою та офіційні препарати рослинного походження: сальвін, лютенурін, ромазулан, рекутан, новоіманін та інші. Вони мають антимікробну, в'язучу, протизапальну дію, стимулюють епіталізацію [55,61,116,140,171].

Останнім часом більш широкого застосування для лікування захворювань пародонта набувають гомеопатичні препарати [54,75,88,122,139,260]. Створення комплексних гомеопатичних препаратів, вибір яких здійснюють за звичним етіопатогенетичним принципом, дає можливість вирішити ці проблеми. Досягнення стійких клінічних результатів можливе за рахунок нового напрямку – антигомтоксична терапія [79,109].

При розвитку генералізованого пародонтиту виникає значна площа ураження (пародонтальні кишені), через яку всмоктується велика кількість різноманітних токсинів. Результатом такої дії є розвиток ендогенної інтоксикації у хворих на генералізований пародонтит [4]. Тому одним з важливих аспектів комплексного патогенетичного лікування захворювань пародонта (генералізованого пародонтиту) є детоксикація (очищення) організму від токсичних речовин і продуктів метаболізму умовно-патогенних мікроорганізмів [59,164,120,121]. Сорбційна детоксикація, яка включає аспекти імунорегуючої і антиалергічної терапії, займає одне з важливих місць у комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту [19,46,51,262].

Лікувальна дія ентеросорбції обумовлена прямими і опосередкованими ефектами [46]. Пряма дія – це фіксація з виведенням із шлунково-кишкового тракту бактеріальних токсинів, ендогенних продуктів секреції і гідролізу, біологічно активних речовин (гістаміну, серотоніну, простагландину), сорбція патогенних, умовно-патогенних мікроорганізмів, вірусів, зв'язування газів. Опосередкована дія – усунення або послаблення токсико-алергічних реакцій,

профілактика ендотоксикозу, зниження метаболічного навантаження на органи екскреції і детоксикації, корекція процесів обміну речовин, покращення кровопостачання [120,121,122,123,261]. У разі іммобілізації на поверхні сорбенту антисептиків, антибіотиків, нітрофуранових препаратів та інших медикаментозних засобів відбувається поєднання активності сорбенту і антибактеріального препарату [164].

Лікувальний ефект сорбенту досягається завдяки фізико-хімічним властивостям сорбуючої речовини, що здатна зв'язувати і виводити із організму токсичні продукти [176,202,214]. Виявлена певна залежність - чим менші за розміром пори, тим вищий терапевтичний ефект сорбенту. Поряд з текстурою сорбенту велику роль для сорбції відіграє хімічна природа його поверхні. Відповідно до неї сорбенти бувають вуглецеві, кремнійвмісні, природні органічні та комбіновані [209,210].

Сорбенти справляють детоксикаційну, дегідратаційну, імуностимулювальну, ензимоподібну каталітичну та бактеріостатичну дію. Також вони здатні підвищувати рН середовища, депонувати лікарські засоби з подальшим їх виділенням. Застосування сорбентів при багатьох захворюваннях є патогенетично обумовленим і важливим, особливо за умов посилення резистентності мікроорганізмів до антибактеріальних засобів [179,206,240,241].

Ефект значного збільшення біодоступності лікарських речовин, зумовлений впливом наноструктурних часток кремнезему [319] на проникність клітинних мембран, став основою для розробки й випробування композиційних матеріалів на основі високодисперсних кремнеземів (ВДК) із заданою фармакодинамікою. За наявності ВДК змінюються властивості інших лікарських речовин, подовжується час їхньої дії, поліпшується біодоступність [114,141,156,237]. Це означає, що, зменшивши дозу активної речовини, можна домогтися того ж самого терапевтичного ефекту. Протипоказання для аплікаційного застосування сорбентів не встановлені [141,156,214,237].

На основі проведеного аналізу можна зробити висновок, що питання розробки нових лікувально-профілактичних комплексів на основі наносорбентів з антибактеріальними та протизапальними препаратами, а також методів комплексної терапії генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів комбінованої дії є досить актуальним [45,58,173].

1.3 Перспективи застосування препаратів на основі нанотехнологій в медицині

На сьогоднішній день нанотехнології - це область фундаментальної і прикладної науки і техніки, яка має справу з методами виробництва і застосування продуктів із заданою атомарною структурою, іншими словами - продуктів, створених шляхом маніпулювання окремими атомами і молекулами. Це означає, що вона оперує з окремими атомами для того, щоб отримати структури з атомарною точністю [44,45,58,70,128,173].

Вчені світу проводять інтенсивні дослідження щодо вивчення властивостей різних синтезованих наноструктур: наночастинок (nanoparticles), ліпосом (liposomes), наностержнів (nanorods), нанотрубок (nanotubes) [285,287,305,306], фулеренів (fullerenes) [218,297,340], наносфер (nanospheres), квантових міток (quantum dots), дендримерів (dendrimeres), нанокompозитів (nanocomposites), нановолокон (nanofibers), нанокапсул (nanocapsules) тощо [288,291,295,309,325,327,328,329,342].

В медицині на основі досліджень щодо впливу наночастинок на організм сформувались певні напрямки. Нанофармакологія - вивчає фізико-хімічні, фармакодинамічні, фармакокінетичні властивості розроблених на основі нанотехнологій нанопрепаратів, показання, протипоказання до їх застосування, можливі побічні ефекти [249,277,296]. Наномедицина - вивчає можливість застосування нанотехнологічних розробок (нанообладнання, нанопрепаратів) в

медичній практиці для профілактики, діагностики та лікування різних захворювань [300,308,320,321,323,338,355]

Наночастинки - це частинки, розміри яких не перевищують 100 нанометрів (1 нанометр - 10^{-9} метра) і складаються з 10^6 або меншої кількості атомів. Під наночастинками мають на увазі цілком конкретні (і, перш за все, штучно створені) молекулярні конструкції. Завдяки своїм розмірам вони можуть легко проникати в різні органи людського організму, а за рахунок великої поверхневої площі вони мають виражену біологічну активність [173,272,278,285,302,305,306,360]. Для наночастинок характерна наявність магнітних властивостей, завдяки чому вони мають виражену бактеріостатичну дію [175,192,216].

Наночасточки сприяють зменшенню побічних ефектів інших лікарських засобів. Так, ліпосоми зменшують токсичність медикаментів, використовують ці наночастинки як системи для кращої доставки препаратів [77,254,265,344,354,356].

Нанорозміри мають біологічно активні речовини організму, мембрани клітин, стінка капілярів. Це сприяє ефективному перебігу фізіологічних процесів за участю біологічно активних речовин внаслідок того, що завдяки маленькому розміру наночастинки можуть проникати через клітини мембран і розподілятися в організмі. Таким чином, в організмі людини постійно відбуваються фізіологічні процеси на основі природних нанотехнологій [290,350]. Враховуючи це, розроблені методи контролю процесів демінералізації кісток на рівні нанорозмірних підсистем кісткової тканини, що дозволяє розробляти відповідні методи її відновлення [288].

Численними дослідженнями визначені закономірності і вивчені механізми теоретичних основ розробки селективних носіїв на основі ультрадисперсних частинок різної природи, яким властива природня спорідненість до певних клітин організму. Синтезовані частинки, спорідненість яких можна змоделювати і організувати, в тому числі і до трансформованих або пухлинних клітин. Для виготовлення таких частинок-носіїв використовують

різні матеріали. Отримані одним з таких методів наночастинки володіють найрізноманітнішими властивостями і можуть бути застосовані в медицині. На сьогоднішній день можна побудувати навіть цілі молекули наночастинок із заданими властивостями [8,162,290,300,302].

Наносії формують також на основі різних матеріалів, що зазнають біодеградації: натуральних і синтетичних полімерів, ліпідів або фосфоліпідів, органометалевих та / або металевих сполук. В основному це ультрадисперсні колоїдні системи, наприклад: наночастинки, нанотрубки, нанокапсули, ліпідні комплекси, полімерні міцели і дендримери тощо [288,291,295,299,309,325,327,328,329,342]. Для доставки лікарських препаратів і генів використовують також вуглецеві нанотрубки [285,287,305,306] і фулерени. [218,297,340].

Фулерени являють собою відносно недавно описану аллотропну модифікацію вуглецю у вигляді порожніх сферичних утворень. Водорозчинні похідні фулерену C₆₀ використовують як противірусні та антибактеріальні агенти, фотосенсибілізатори для фотодинамічної терапії онкологічних захворювань. Антиоксидантні та антиапоптотичні ефекти фулеренів використовують в терапії бокового аміотрофічного склерозу і хвороби Паркінсона [218,297,340].

Наночастинки металів. Серед них найбільш відомі наночастинки золота і срібла. Наночастинки золота можуть слугувати при проведенні імуноферментного аналізу за рахунок їх зв'язування з антитілами. Застосовували наночастинки золота для підвищення чутливості імунохроматографічних діагностичних смужок. Електрохімічний підхід, заснований на частковому заміщенні електродів наночастинками золота, використовують для безміткової детекції раково-ембріонального антигену [77,219,224,275,276,312,322,358359]. Наночастинки срібла в останні роки з успіхом використовували для посилення флуоресценції в імунодіагностиці [97,98,180,187,219,267,363].

За допомогою нанотехнологій можна домогтися адресної доставки ліків в хворий орган, уникаючи при цьому побічних ефектів. Проведене вченими Каттеш Катті (Kattesh Katti) і Рагураманом Кннаном (Raghuraman Kannan) з Університету Міссурі в Колумбії (США) дослідження показали, що після введення в кров наночастинки концентруються в прищеплених мишам тканинах пухлини простати людини, практично не передаючи радіоактивність іншим органам. Вони вбивають пухлинні клітини, не пошкоджуючи здорових. Складні наночастинки можуть бути ефективними терапевтичними засобами проти раку [310,315,352].

Переваги використання наночастинок в якості переносників лікарських препаратів:

- при використанні нанорозмірних переносників об'єм розподілу препарату зазвичай знижується;
- відбувається зниження токсичності препарату за рахунок його вибіркового накопичення в пошкодженій тканині і меншого надходження в здорові тканини;
- багато нанопереносників збільшують розчинність гідрофобних речовин у водному середовищі і таким чином роблять можливим їх парентеральне введення;
- системи доставки сприяють підвищенню стабільності препаратів на основі пептидів, олігонуклеотидів і невеликих гідрофобних молекул;
- нанопереносники являють собою біосумісні матеріали.

За механізмом забезпечення адресної доставки препаратів виділяють дві основні стратегії - пасивне і активне перенесення [50,272,276,285,302, 309,360].

Розроблені та отримані позитивні дані лікування злоякісних пухлин за допомогою введення в пухлину наночастинок благородних металів (золото, платина, срібло). Частинок цих металів (найчастіше золота) внаслідок феномена поверхневого резонансу володіють розширеним видимим і інфрачервоним світловим поглинанням. Воно на кілька порядків більш інтенсивне порівняно зі стандартними лазерними агентами. Використання

цього феномена дозволило проводити вибірккову і більш ефективну протиракову терапію [300,310,315,352].

В медицині досить широко застосовують порошок нанодисперсного кремнезему - силікс, мазь наносрібла, капсули нанозаліза, ліпосоми тощо. Продовження досліджень нанонауки, нанобіології, нанофармації сприяють розкриттю нових аспектів дії та активності нанорозмірних матеріалів і отриманню ефективних лікарських засобів [162,163,254].

Наночастинки з успіхом застосовують у стоматології. Для захисту поверхні зубів запропонована штучна біоплівка (так званий штучний наліт), до складу якої введені нанотрубки (д.м.н., професор, завідувач кафедри мікробіології Московського державного медико-стоматологічного університету Віктор Царьов) [2]. Очікується, що наностоматологія зможе продовжити термін служби зубів за рахунок заміни поверхневих шарів емалі ковалентно пов'язаними з нею ультраміцними матеріалами, наприклад, сапфіром і алмазом, які перевершують міцність емалі в 20-100 разів. Планується введення їх до складу зубних порошків і паст нанороботів, здатних повністю очищати над- і підясенні поверхні зубів від несформованого нальоту і каменю, перетворюючи отриманий органічний матеріал в безпечні пари, позбавлені запаху [252].

Вчені Інституту досліджень матеріалів Лідського університету на сьогодні намагаються створити наносфери з гідроксиапатиту. При високих значеннях рН гідроксиапатит формує маленькі круглі часточки, які більш підходять для заповнення дентинних каналців. Їх заповнення в свою чергу стимулює ремінералізацію, що може зробити використання наносфер гідроксиапатиту потужним профілактичним засобом [168].

Наночастинки широко використовують при створенні нових поколінь композиційних пломбувальних матеріалів – нанокомпозитів [5,84,336,337,362].

Останнім часом зростає зацікавленість і помітний значний прогрес у застосуванні лазерних і нанотехнологій в стоматології [97].

Вперше запропоновано дезінфекцію макро-і мікросистеми кореневого каналу зуба з використанням наночастинок на прикладі наночастинок срібла як

ефективного антибактеріального агента пролонгованої дії (на рівні винаходу) [97,98]. Доведено глибоке проникнення наночастинок в дентинні мікроканальці, їх пролонговану антибактеріальну дію і блокуючу функцію (на рівні винаходу). Вперше реалізована нанолазерна дезінфекція системи каналу кореня зуба на основі ефектів лазерної активації наночастинок в режимі нанофотопіролізу і в умовах поверхневого плазмового резонансу на наноконплекси фотокаталізатора (на рівні винаходу).

Відомо, що наночастки золота заряджені позитивно. А оскільки антитіла мають негативний заряд при рН 7,4, то вони можуть бути адсорбовані на наночастинки золота шляхом звичайного електростатичної взаємодії [319]. Таким чином, ця властивість наночастинок золота може бути використана для терапії та профілактики гнійних захворювань щелепно-лицьової області, наприклад лікування абсцесу, флегмони, фурункулів, карбункулів, гнійного лімфаденіту щелепно-лицьової області та ін..

З іншого боку, є повідомлення про можливу побічну дію наночастинок на організм людини. Проте інформація про потенційно небезпечні впливи наночастинок на організм людини погано систематизована, а наявні дані часто вимагають підтвердження на інших, більш релевантних моделях. Проте не завжди і не скрізь наноматеріали справляють токсичну або іншу шкідливу дію [251,254].

Таким чином, на основі аналізу даних літератури та результатів проведених досліджень доцільно визначити перспективи наукових розробок в ділянці нанонауки, нанотехнології, наномедицини, нанофармакології, нанофармації:

1. Розробка нових технологій отримання наночастинок, особливо композитів органічного та неорганічного походження.
2. Створення нових лікарських форм для зовнішнього, внутрішнього, парентерального і інгаляційного застосування.
3. Дослідження механізмів лікувальної дії та токсикології нових нанопрепаратів.

4. Вивчення всіх аспектів взаємодії наноструктур з організмом і зовнішнім середовищем.

Очевидна необхідність поглибленого вивчення фізіологічних механізмів дії нових нанопрепаратів і можливого їх побічного впливу, розробки фармацевтичних технологій отримання адекватних лікарських форм з метою успішного застосування в медичній практиці для лікування різних захворювань.

1.4. Застосування мукозо-адгезивних гелів в стоматології

Для підвищення біодоступності лікарських засобів останнім часом все ширше використовують явище мукоадгезії. Воно означає здатність засобу фіксуватися на поверхні слизової оболонки, створювати високу локальну концентрацію діючої речовини і пролонгувати її біологічну дію) [233,105].

Для того, щоб лікарські засоби могли тривалий термін знаходитись на поверхні слизової оболонки, їх необхідно поєднати зі спеціальною мукозо-адгезивною речовиною, яка забезпечує зв'язок зі слизовою оболонкою за рахунок механічних і фізичних взаємодій, водневих зв'язків, гідрофобних, ван-дер-ваальсових та електростатичних взаємодій [185,233,250]. Як правило, мукозо-адгезивні речовини представлені біополімерами або синтетичними полімерами з відповідними властивостями [233,234].

Застосування мукозо-адгезивних полімерів обумовило прогрес в технології лікарських форм, зокрема, оральних гелів. В даному випадку утримання орального гелю ускладнено постійним утворенням слини і рухомістю тканин ротової порожнини. Як правило, час утримання орального гелю становить менше 10 хвилин. Однак, анатомічна будова слизової оболонки ротової порожнини (товщина < 1 мкм), відносно висока проникність (в порівнянні зі шкірою в 100-1000 разів), вихід лікарських речовин безпосередньо в системний кровообіг (без попереднього проходження через

печінку), а також можливість чіткої локалізації зони аплікації та швидкого усунення в разі проявів побічних ефектів дають оральним гелям певну перевагу. Поверхня щоки слизової оболонки порожнини рота становить менше 50 см², однак це достатньо для здійснення системної терапії хронічних захворювань[233]. .

Оральні гелі знайшли широке застосування в стоматології. Вивчена антимікробна ефективність гелю зі вмістом настоянки софори і хлоргексидину. Гель зі вмістом 3 %-ного екстракту кори дуба виявився ефективним за умов експериментального виразкового стоматиту. На моделі травматичного стоматиту у щурів була встановлена лікувальна дія орального гелю «Ротрин-Дента», до складу якого входить рослинний препарат «Ротокан» (екстракти квіток ромашки, нагідків лікарських і трави деревію звичайного). При експериментальному стоматиті виявився ефективним оральний гель «Комфорт», який суттєво знижував рівень в слизовій оболонці прозапальних цитокінів ІЛ-1 β та ФНП- α . У пацієнтів при використанні брекет-систем для профілактики і лікування гінгівітів виявився ефективним оральний гель «Холісал» (виробник – польська фірма «Jelfa»), який містить холін саліцилат, хлорид цеталкопію та низку антисептичних препаратів [185].

У пацієнтів з генералізованим пародонтитом аплікації на ясна гелю з вмістом L-аргініну, інозиту і сіліксу на протязі 10-12 днів знижували в слині до норми вміст МДА, збільшували активність каталази та аскорбінової кислоти і відновлювали до норми показник антиоксидантного захисту [185].

Найбільш широкі дослідження оральних гелів були проведені в Інституті стоматології НАМН України під керівництвом проф. А.П.Левицького [130,132,138]. Розроблено понад 15 рецептур оральних фітогелів з вмістом біофлавоноїдів і рослинних поліфенольних екстрактів, з вмістом пребіотиків, пробіотиків, лізоциму, гіалуронової кислоти. Розроблені оральні фітогелі виявилися ефективними не тільки при стоматологічних захворюваннях (пародонтит, стоматит), але й при цукровому діабеті.

При аналізі спеціальної літератури не виявлено даних про наявність та використання мукозо-адгезивних гелів зі вмістом нанопрепаратів срібла та золота.

Резюме. Проведений аналіз спеціальної літератури показав, що для лікування захворювань пародонта (як запальних, так і дистрофічно-запальних) використовують дуже велику кількість різноманітних препаратів. Така їх велика кількість свідчить як про складність захворювання, яке лікують, так і, можливо, про недостатню ефективність медикаментозних препаратів. Найважливіше місце у комплексному медикаментозному лікуванні захворювань пародонта займають антибактеріальні препарати. Незважаючи на їх велику кількість, умовно-патогенна (пародонтопатогенна) мікрофлора швидко звикає до антибактеріального препарату і тим самим втрачається його клінічна ефективність. Подібна ситуація потребує розробки та створення нових, більш ефективних антибактеріальних препаратів, до яких би менше звикала мікрофлора. Аналіз літератури показав перспективність застосування з цією метою різноманітних нанопрепаратів і нанотехнологій. Зокрема, з точки зору антибактеріальної дії, звертають на себе увагу нанопрепарати золота і срібла. Їх досить ефективно застосовують у різних галузях медицини і недостатньо у стоматології. Враховуючи вищевикладене, актуальним є вивчення можливостей застосування нанопрепаратів золота і срібла у стоматології, зокрема, для лікування захворювань пародонта.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Організація і загальна характеристика проведених досліджень

Для вирішення поставлених завдань даної наукової роботи було заплановано та здійснено експериментальна (доклінічні випробування дії препаратів) та клінічна частини роботи.

Комітетом з біоетики Національного медичного університету імені О.О.Богомольця (протокол № 105 від 3.10.2018) встановлено, що проведені експериментальні та клінічні наукові дослідження відповідають морально-етичним вимогам Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977), відповідним положення ВООЗ, законам України та етичному кодексу лікаря України.

Першим етапом нашого дослідження було мікробіологічне визначення антибактеріальної активності зразків високодисперсних зразків силікагелів з наночастинками золота.

Експериментальна частина дослідження складалася з наступних етапів:

- місцевої гострої та хронічної токсичності при нанесенні на шкіру та при введенні мукозального гелю «Нанозолото» в шлунок піддослідних тварин;
- дослідження шкірно-подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото»;
- дослідження подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото» на слизову оболонку порожнини рота;

- дослідження сенсibiliзувальної дії мукозального гелю «Нанозолото»;
- визначення впливу мукозального гелю «Нанозолото» на тканини пародонта при моделюванні експериментального пародонтиту.

Лабораторними методами було досліджено зміни активності основних маркерів запалення: еластази, кислої фосфатази, антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ)

Наступним етапом було клінічне дослідження (клініко-лабораторне обстеження та лікування). Цей етап включав в себе наступну послідовність:

- проведення комплексного обстеження тканин пародонта за стандартною схемою (до лікування та на етапах лікування);
- визначення гігієнічних індексів з метою виявлення та оцінка характеру зубних відкладень за Д.А.Ентінім;
- проведення лікування хворих на ГП загальноприйнятими методами згідно протоколів МОЗ України (2004).

Аналіз результатів проводили на підставі оцінки достовірності відмінностей середніх величин з використанням критерію Стьюдента.

2.2 Дизайн дослідження

2.2.1 Мікробіологічні дослідження

Першим етапом науково-дослідницької роботи було вивчення *in vitro* антимікробних властивостей високодисперсних гелів, що містять наночастинки золота і срібла відносно тест-штамів мікроорганізмів та змішаної мікрофлори пародонтальних кишень.

Мікробіологічні дослідження були проведені на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця.

В якості тест-мікроорганізмів були використані штами *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* та змішана мікрофлора з пародонтальних кишень і кореневих каналів зубів з періодонтитом.

На даному етапі дослідження були використані високодисперсні силікагелі, що містять нанорозмірні кластери золота і срібла із заданою різною поверхневою концентрацією (50-400 мкг/г силікагелю) і розміром наночастинок благородних металів 5нм.

Для визначення антимікробної дії досліджуваних зразків (сполуки №№ 1-9) були вибрані різні за таксономічним положенням грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також дріжджеподібні гриби роду *Candida albicans* (табл. 2.2). Це були референтні тестові штами мікроорганізмів, отримані з музею живих культур лабораторії загальної мікробіології інституту Київського НДІ епідеміології і інфекційних хвороб АМН України.

Таблиця 2.1

Мікроорганізми, використані в даному дослідженні

Мікроорганізми	Кількість штамів	Джерело мікроорганізмів
S.aureus ATCC 25923	1	Музей живих культур Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського
E.coli 001 048	1	-//-
Candidaalbicans ATCC885-653	1	-//-

У роботі також була досліджена змішана мікрофлора, виділена з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

Для порівняльного дослідження визначення чутливості мікрофлори були використані наступні препарати [30]:

1. Високодисперсні силікагелі з наночастинками золота, що містять на своїй поверхні нанорозмірні кластери золота і срібла із заданою різною поверхневою концентрацією [50-400 мкг/г силікагеля] і розміром наночасточок благородних металів;
2. Умкалор - 1,2% - антибіотик рослинного походження (*Pelargoniasidoides*) – екстракт коренів герані;
3. Хлоргексидин - 0,05% - антисептик хлорумісних галогенових сполук;
4. Етоній - 0,5% - антисептик групи бісчетвертинних - амонієвих сполук;
5. Мірамістин -0,01% - катіонна поверхнево - активна речовина з антисептичною дією;
6. Хлорофіліпт - 1% - спиртовий розчин - рослинний антисептик (суміш хлорофілів листків евкаліпту).

В якості стандартних штамів в дослідженнях використані *Staphilococcus aureus* (ATCC 27923), *Escherichiacoli* (ATCC 27922), *Candidaalbigans* (885 663).

2.2.2 Експериментальні дослідження

Експериментальні дослідження проведені у віварії ДУ «Інститут стоматології НАМН України» (м. Одеса). Тварин утримували в умовах віварію за відповідними правилами догляду. Перед експериментом їх стандартизували за показниками здоров'я. Експерименти проводили з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин згідно з вимогами науково-практичних рекомендацій щодо утримання лабораторних тварин та роботи з ними ДФЦ МОЗ України (2002) та порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах (2012) [87]. Для обробки

цифрових значень результатів дослідження використовували традиційні методи варіаційної статистики [127].

В експериментальних дослідженнях було використано 247 білих щурів лінії Вістар обох статей віком 2,5-5місяців, а також 40 білих мишей віком 3 місяці.

Об'єктами досліджень були кров, тканини пародонта (ясна), гомогенати слизової ясен та щоки, а також кісткова тканина.

2.2.3 Клінічні дослідження

Клінічні дослідження (клініко-лабораторне обстеження та лікування) були проведені на групі хворих на генералізований пародонтит I ступеня хронічного та загостреного перебігу. Постановку діагнозу здійснювали відповідно до систематики захворювань пародонта М.Ф. Данилевського (1994).

Дослідження проводились на кафедрі терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця а також Інституту стоматології та щелепно-лицьової хірургії м. Одеси.

Основну групу хворих склали 40 пацієнтів, групу порівняння 39 пацієнтів.

Відбір пацієнтів за статтю мав випадковий характер у порядку звернення пацієнтів. Таким чином було сформоване наступне співвідношення хворих за статтю: 36 чоловіків та 43 жінки (рис.2.1).

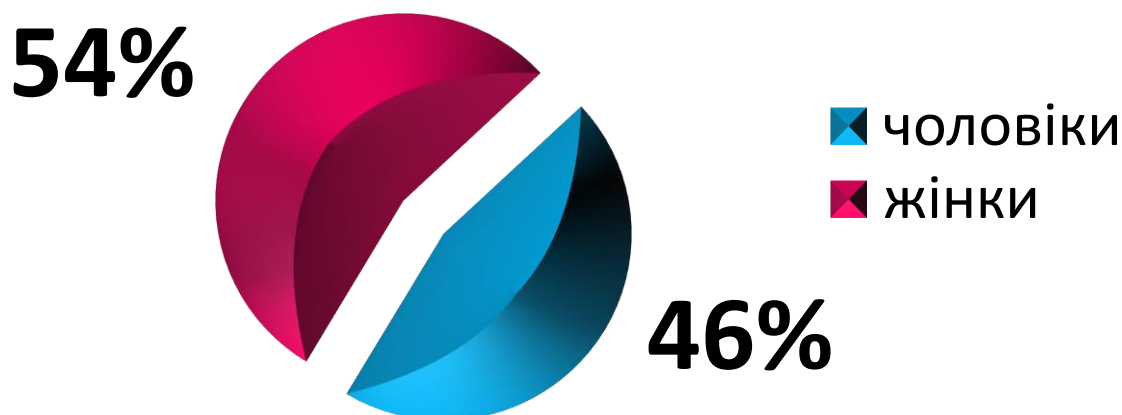


Рис. 2.1 Розподіл хворих за статтю

Розподіл хворих за віком представлено на рис.2.2. Так, найчисельнішою виявилася група хворих у віці 36-40 років – 32 пацієнта. Другою – 22 чоловік, стала група віком 41-56. Наступною, 20 чоловік, була група віком 31-35 років, дещо менше 5 чоловіка – групи віком 26-30 років.

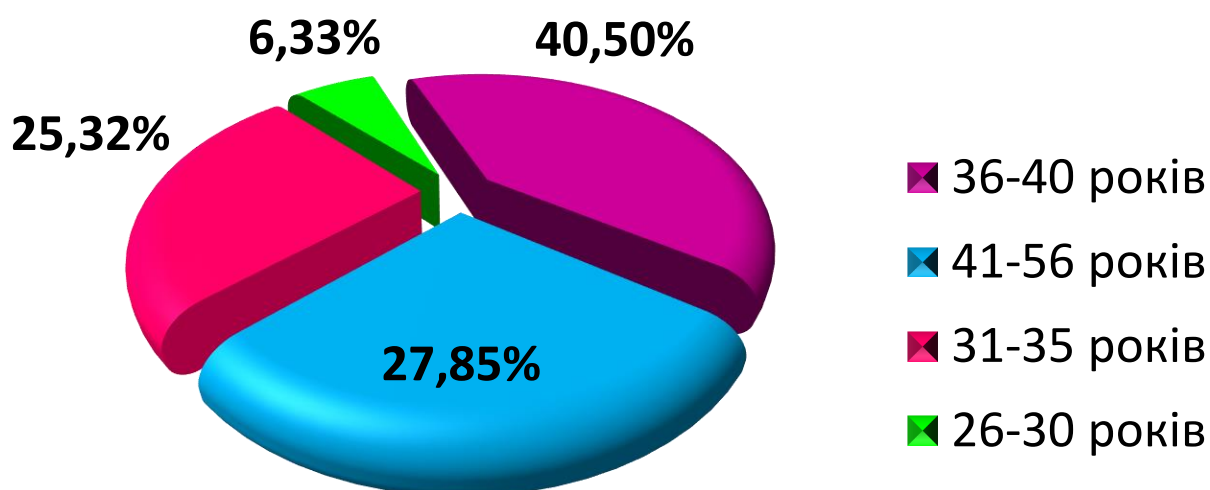


Рис.2.2 Розподіл хворих за віком

Розподіл пацієнтів за віком та статтю приведено в таблиці 2.2

Таблиця 2.2.

Розподіл пацієнтів за віком і статтю

Вік(років)		26-30	31-35	36-40	41-56	
Стать	Жінки	абс.	3	9	17	12
		%	3,79%	11,39%	21,53%	15,20%
	Чоловіки	абс.	2	11	15	10
		%	2,53%	13,92%	18,98%	12,66%

При розподілі за віком і статтю (таблиця 2.2) найбільше жінок склала група віком 36-40рр. – 17 пацієнтів, 12 пацієнтів – віком 41--56рр. Жінок у віці 26-30рр. та 31-35рр. по 3 та 9 пацієнтів відповідно.

Чоловіків було найбільше у віці 36-40рр. – 15 пацієнтів, дещо менше 10 пацієнтів – у віці 41-56рр. Чоловіків віком 26-30рр. та 31-35рр. було 2 та 11 відповідно.

Під час первинного огляду, згідно протоколу рекомендованому МОЗ України[112], всі пацієнти, яким було діагностовано генералізований пародонти I ступеня, в залежності від перебігу, розподілялись на дві групи:

I група – 50 пацієнтів з хронічним перебігом

II група – 29 пацієнтів із загостреним перебігом (рис.2.3)

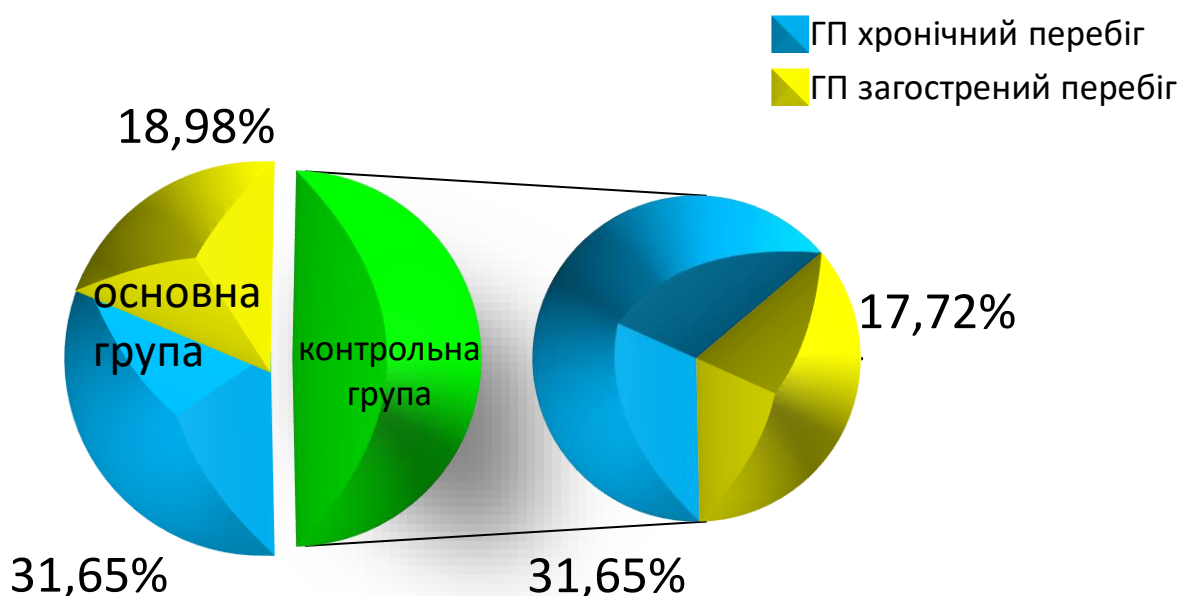


Рис. 2.3 Розподіл хворих в групи за діагнозом

Критерії включення хворих до групи дослідження:

- наявність діагнозу генералізований пародонтит I ступеня, хронічного та загостреного перебігу;
- вікова категорія від 25 до 60 років
- відсутність у хворих тяжких соматичних захворювань;
- відсутність зубо-щелепних деформацій;
- письмова згода хворих на проведення дослідження.

Критерії виключення:

- виявлення соматичних захворювань в процесі лікування;
- алергічні реакції на складові лікувальної композиції.

Клінічні дослідження проводились на двох дослідних групах хворих сформованих до початку дослідження шляхом стратифікаційної рандомізації за критеріями „вік”, „стать”, і групі здорових.

2.2.4 Методи статистичної обробки результатів досліджень

Аналіз результатів проводили на підставі оцінки достовірності відмінностей середніх величин з використанням критерію Стюдента.

Для проведення аналізу отриманих результатів були використані методи біостатистики, розрахунки проводили за допомогою пакету “R” v.3.2.0 (R Foundation for Statistical Computing, 2015). Для надання даних розраховували середнє значення показника (\bar{X}) та стандартну похибку $\pm m$. Для проведення порівняння результатів використовували критерій Крускала-Уолліса [174]. Критичний рівень значущості дорівнював 0,05.

Усі обрахування були проведені на ЕВМ за допомогою спеціальних програм статистичного аналізу (STATISTICA, Excel). При наявності малої кількості спостережень оцінку достовірності різниці відносних частот проводили за непараметричними методами (Р.Рунион, 1982; О.П.Минцер, Б.Н.Угаров, В.В.Власов, 1991) [127,160].

2.3 Метод дослідження

2.3.1 Дослідження антибактеріальних властивостей високодисперсного силікагелю з наночастинками золота

З метою визначення антимікробної дії досліджуваних зразків силікагелів з наночастинками золота, був використаний метод дифузії в агар (метод «колодязів») [42].

Чашки Петрі встановлювали на горизонтальну поверхню і заливали двома шарами твердого поживного середовища. Нижній шар – 10 мл розтопленого «голодного» агару АГВ, верхній шар – поживне середовище для відповідної добової культури тест-штаму мікроорганізму (для E.coli- м'ясо пептонний агар (МПА), для S.aureus, - МПА з додаванням 1,0% глюкози (глюкозний МПА), для Candida albicans – середовище Сабуро). Після охолодження нижнього шару агару на ньому встановлювали на однаковій відстані один від одного і від краю чашки дев'ять сталевих тонкостінних циліндрів (внутрішній діаметр – 6,0±0,1мм, висота – 10,0±0,1мм). Довкола циліндра заливали верхній шар – 13,5 мл розтопленого і охолодженого до 45-48°C агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму (1,5мл мікробної суспензії відповідної концентрації). Після охолодження верхнього шару агару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки розміщали 25,0 – 30,0 міліграм досліджуваного препарату. Облік результатів проводили через 24 години шляхом визначення зони затримки зростання мікроорганізмів в мм, включаючи і діаметр лунок.

Для отримання вмісту пародонтальних кишень стерильний паперовий штифт (розмір № 25) стерильним пінцетом вносили у пародонтальну кишеню і протягом 7-10 секунд просочували штифт вмістом патологічного вогнища (фото 2).

Перед забором матеріалу поверхню зуба очищали від нальоту за допомогою стерильної ватної кульки. Досліджувані об'єкти вносили в пробірку з поживним середовищем Brain Heart Infusion Broth.

При порівняльному дослідженні антибактеріальної активності силікагелю з наночастинками золота та широко відомих антисептиків, визначали за розміром (у мм) діаметра зон затримки росту мікроорганізмів навколо кожного зразка (Тетеріна Л.Н., 1997). Оцінку антибактеріальної ефективності проводили за такими критеріями:

- 11-14мм - незначний антибактеріальний ефект;
- 15-19мм - помірно виражений антибактеріальний ефект ;
- 20-40мм - високий антибактеріальний ефект.

Кожен з експериментів для статистичної достовірності повторювали 7-8 разів. Визначали середнє арифметичне значення для кожної із досліджуваних груп антибактеріальних препаратів.

Для проведення аналізу отриманих результатів були використані методи біостатистики, розрахунки проводили за допомогою пакету "R" v.3.2.0 (R Foundation for Statistical Computing, 2015). Для надання даних розраховували середнє значення показника (\bar{X}) та стандартну похибку $\pm m$. Для проведення порівняння результатів використовували критерій Крускала-Уолліса [174]. Критичний рівень значущості дорівнював 0,05.

2.3.2 Експериментальні дослідження

Метою даного етапу досліджень полягала в оцінці токсико-гігієнічних показників, у вивченні специфічної дії та проведенні клінічних досліджень мукозального гелю «Нанозолото».

Вивчення місцевої гострої та хронічної токсичності при нанесенні мукозального гелю «Нанозолото» на шкіру

Для дослідження *гострої токсичності* на бічній поверхні тварин (статевозрілі білі щури віком 2,5-3 місяців, обох статей масою 150-190 г.) голили шерсть площею 4см². Втирали зразки досліджуваного мукозального гелю «Нанозолото» з розрахунку 2500 мг/ кг маси тварини. Контрольній групі тварин втирали фізіологічний розчин. Спостереження за тваринами проводили протягом 14-ти діб. Контрольним тваринам в шкіру втирали фізіологічний розчин.

Дослідження *хронічної (підгострої) токсичності* при нанесенні на шкіру мукозального гелю «Нанозолото» проведені на білих щурах (вік 2 місяці, маса тіла 150-170г), яким протягом місяця втирали гель в поголені ділянки шкіри. Щоденна доза - 300мг/кг. Спостереження проводили під час усього експерименту, а також протягом тижня після закінчення експерименту. Контрольним тваринам в шкіру втирали фізіологічний розчин.

Для оцінки токсичності досліджуваного препарату визначали особливості поведінки тварин, їх загальний стан (чи загибель у разі значної токсичності препарату), ознаки запалення (у разі їх наявності) ділянки, на яку наносили досліджуваний препарат.

Визначення загальної гострої та хронічної токсичності при введенні мукозального гелю «Нанозолото» в шлунок

Дослідження *гострої загальної токсичності* гелю проведені на 40 лабораторних мишах 3-х місячного віку масою 20 г. Препарат вводили тваринам внутрішньошлунково одноразово за допомогою орального зонда в дозі 0,3мл/тварину в наступних концентраціях, мг / кг: 10000, 5000, 2000. Кожну дозу досліджували на 5 тваринах. Контрольній групі внутрішньошлунково вводили воду. Миші не отримували їжу протягом ночі, що передувала випробуванню, і протягом 3-х годин після введення препарату. Спостереження за тваринами проводили протягом наступних 14 днів.

Дослідження *хронічної (підгострої) токсичності* проведено на білих щурах (віком 2-2,5 місяця, самки і самці порівну). Гель «Нанозолото» вводили тваринам щодня натще внутрішньошлунково у вигляді водного розчину в дозі 0,5 мл / тварину. Контрольна група щурів отримувала внутрішньошлунково воду. Тривалість експерименту складала 60 діб.

Оцінку підгострої токсичності проводили за наступними показниками: приріст маси тварин за час експерименту, морфологічний склад крові, вміст білка визначали за методом Лоурі [333], активність трансаміназ в сироватці крові [333], макро- і мікроскопічне дослідження внутрішніх органів.

Дослідження гострої та підгострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» проводили відповідно з «Методичними вказівками по експериментальному (фармакологічному) та клінічному випробуванню гігієнічних та лікувально-профілактичних засобів по догляду за порожниною рота» Державного фармакологічного центру України.

При дослідженні гострої та підгострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» біохімічні аналізи проводили в сироватці крові, в тканинах серця, легенів, нирок, селезінки, печінки, шлунка, ясен, кістковій тканині альвеолярного паростка.

При дослідженні підгострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» на 30-й та 60-й день проводили забір крові у щурів для кількісного підрахунку формених елементів. Для цього дослідження кров брали з хвостової вени тварин. Підрахунок проводили згідно загально прийнятими методиками.

Вміст білка в сироватці крові та гомогенатах тканин оцінювали колориметричним методом Lowry [333], що заснований на утворенні забарвлених продуктів ароматичних амінокислот та цистеїну з реактивом Фоліна в поєднанні з біуретовою реакцією на пептидні зв'язки.

Вивчення шкірно-подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото»

Шкірно-подразнювальну дію визначали шляхом втирання досліджуваного зразку гелю, розведеного водою 1:10, в поголені ділянки шкіри білих щурів протягом 30днів. Зміни функціонального стану шкіри піддослідних тварин визначали за ступенем запальної реакції: еритема, набряк. Оцінку стану шкіри визначали на 10-й, 20-й і 30-й день досліджень.

Вивчення подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото» на слизову оболонку порожнини рота

Дослідження проведені на 18 статевозрілих щурах 175-200г (по 9 голів у кожній групі). У тварин перед початком випробувань перевіряли стан слизової оболонки порожнини рота, а потім проводили обробку порожнини рота гелем, розведеним водою 1:10, 4 рази на день протягом 4-х діб. Контрольній групі тварин порожнину рота обробляли фізіологічним розчином.

Спостерігали тварин протягом 7 днів (4дні дослідження і 3 дні після закінчення обробки порожнини рота).

Вивчення сенсibiliзувальної дії

Сенсibiliзувальну дію гелю оцінювали шляхом відтворення локальних реакцій. Дослідження проводили на білих щурах віком 2,5 місяця.

Гель, розведений стерильною водою 1:10, вводили один раз на підслизовий шар порожнини рота в кількості 0,2мл. Контрольним тваринам в тому ж обсязі вводили стерильний фізіологічний розчин. На 12-у добу на поголеній ділянці розміром 1,5см² на бічній поверхні тулуба проводили аплікації досліджуваного препарату шляхом втирання його в поверхню шкіри.

Результати оцінювали в балах:

0 балів	Відсутність запалення (відсутність сенсibiliзувальної дії) (1s = 0)
1 бал	Слабко помітне запалення(слабка сенсibiliзувальна дія) (1s = 1)
2 бали	Добре помітне запалення(помірна сенсibiliзувальна дія) (1s = 2)
3 і 4 бали	Яскравопомітнезапалення(вираженасенсibiliзувальнадія) (1s = 3)

Визначення впливу досліджуваного препарату на тканини пародонта при моделюванні експериментального пародонтиту

Експериментальний пародонтит відтворювали двома методами.

I метод – за допомогою аплікацій гелю, що містить кишковий ендотоксин ліпополісахарид (ЛПС). Для цього використовували ЛПС з *Salmonellatyphi* (препарат «Пірогенал» виробництва «Медгамал», Росія) дозою 75 мкг/кг живої маси. Гель з ЛПС готували на 3,0%-ному розчині карбоксиметилцелюлози (КМЦ, натрієва сіль) з концентрацією ЛПС 30 мкг/мл гелю. На ясна щурів наносили 0,3-0,5 мл гелю (для досягнення дози 75 мкг ЛПС на кг живої маси). Протягом 30 хвилин після аплікації гелю з ЛПС щурів позбавляли корму та води. Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом через 24 години [182].

II метод – протамінова модель гінгівіту і пародонтиту, яка базується на здатності протаміну збільшувати проникність тканин пародонта і викликати в них дистрофічно-запальні реакції [137]. Для відтворення протамінового пародонтиту використовували протамінсульфат (виробництва ЗАТ «Індар», Україна) у вигляді 1% -ного розчину. Його вводили до складу 3,0% -ного гелю КМЦ (натрієвої солі) до кінцевої концентрації протамін сульфату 1 мг/мл. Гель наносили на ясна в дозі 0,5 мл на щура протягом 3 днів. Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом на 12-13-й день від початку дослідження.

Протамінова модель пародонтиту була обрана в зв'язку з тим, що протамін як інгібітор гепарину активує гіалуронідазу, яка підвищує проникність гісто-гематичного бар'єру і є прозапальним фактором [137].

Біохімічні дослідження проводили в сироватці крові, гомогенатах ясен та кісткової тканини альвеолярного паростка щелеп щурів. Кров тварин отримували шляхом тотального кровопускання з серця. Попередньо щурам проводили наркоз введенням тіопенталу в дозі 20 мг/кг. Сироватку крові отримували загальноприйнятим методом.

З тканин ясен та кістки альвеолярного відростка щелеп готували гомогенати з розрахунку 50мг на 1мл 0,05 тріс-НСІ буфера рН 7,5.

Для визначення стану дистрофічно- запальних процесів в організмі і тканинах пародонта експериментальних тварин визначали активність еластази, вміст малонового діальдегіду і гіалуронової кислоти; стан мікробного обміну (активність уреаз), неспецифічного імунітету (активність лізоциму), антиоксидантної системи (активність каталази), мінерального обміну (вміст кальцію, активність лужної і кислої фосфатаз).

Вміст білка в сироватці крові та гомогенатах тканин оцінювали колориметричним методом Lowry [333], вміст кальцію та білірубину оцінювали комплексометричним методом [137].

Визначення активності фосфатаз проводили за методом Besseyetal. Активність фосфатаз виражали в мк-кат/кг тканини та в мк-кат/л сироватки. За 1 одиницю активності приймали активність ферменту, який каталізує утворення 1 моля р-нітрофенолу [52].

Визначення активності еластази проводили з використанням синтетичного субстрату N-t-BOC-l-аланін-р-нітрофеніл ефіру (N-t-BOC-L-alanin-p-nitrophenyl ester («Sigma»)), визначаючи концентрацію утворення р-нітрофенолу на спектрофотометрі UV-1240 (Shimadzu) при довжині хвилі 347, 5 нм. Еластаза гідролізує субстрат з утворенням р-нітрофенолу жовтого забарвлення, інтенсивність якого пропорційна активності ферменту. Активність виражали в мк-кат/кг, нкат/кг або нкат/л тканини або слини (сироватки). За 1 катал приймали активність еластази, що каталізує відщеплення 1 моля р-нітрофенола [52].

Вміст малонового діальдегіду визначали (МДА) за допомогою реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою. Кількість МДА виражали в ммоль/кг тканини або ммоль/л або слини (сироватки) [52,132].

Вміст гіалуронової кислоти (міжклітинного «цементу») визначали в гомогенатах ясен за ступенем каламутності розчину після взаємодії надосадової

рідини гомогената з розчином альбуміну за методом Клемента по утворенню комплексу з альбумином [132,236].

Активність уреаз визначали методом заснованим на здатності уреаз розщеплювати сечовину до аміаку, який з реактивом Неслера дає жовте забарвлення. Його визначали, використовуючи спектрофотометр UV-1240, при 440 нм. Інтенсивність забарвлення проби прямо пропорційна активності уреаз. Активність уреаз виражали в мкат/кг тканини або мкат/л слини (сироватки) [132].

Активність лізоциму визначали бактеріолітичним методом Горіна в модифікації А.П.Левицького та Жигіної (1974) [134]. Як субстрат використовували суспензію ацетонового порошку *Micrococcus lysodeicticus* (штам 2665) в 0,1 М фосфатному буфері рН 6,2.

Активність каталази визначали за методом, що засновано на здатності перекису водню, який не прореагував з каталазою, з'єднуватися з солями молібдену в стійкий помаранчевий комплекс. Її активність визначали за швидкістю розщеплення перекису водню (H_2O_2) при рН 7,8, вимірюючи кількість перекису водню за реакцією з молібдатом амонію при 410 нм на спектрофотометрі UV-1240. Активність каталази виражали в мкат / кг або л тканини або слини (сироватки) [132,230].

Антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ розраховували за співвідношенням активності каталази і вмісту МДА [132].

Ступінь дисбіозу розраховували за методом А.П.Левицького, за співвідношенням відносних активності уреаз та активності лізоциму [132].

Вміст малонового діальдегіду (МДА) - продукту перекисного окислення ненасичених жирних кислот - визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) за методом [132], вимірюючи забарвлення утворюється тріметіновий комплексу при 532 нм на спектрофотометрі UV-1240 (Shimadzu). Кількість МДА виражали в мкмольях або мольях / кг або л тканини або слини (сироватки).

2.3.3 Клінічна оцінка стану пародонта

Всім пацієнтам було проведено комплексне обстеження тканин пародонта за стандартною схемою (до лікування та на етапах лікування): безпосередньо після лікування, через 2 тижня та через 2 місяці після лікування.

Діагностику проводили на підставі оцінки загального стану організму, даних анамнезу, наявності загальних та місцевих етіологічних та патогенетичних чинників, зовнішнього огляду та огляду порожнини рота, індексної оцінки стану порожнини рота, а також з урахуванням показників додаткових методів дослідження: рентгенографія тощо. Особливу увагу приділяли вивченню загального стану хворого.

Під час безпосереднього обстеження порожнини рота проводили оцінку стану зубної системи: вид прикусу, ступінь рухомості зубів, їх зміщення. Визначали наявність місцевих подразників тканин пародонта: зубні відкладення (наліт, бляшка, камінь), неповноцінні пломби, аномалії прикусу, наявність та стан зубних протезів (знімних та незнімних). Для виявлення зубного нальоту (зубних бляшок) використовували йодовмісні розчини та інші діагностичні барвники.

При огляді ясен ретельно оцінювали стан ясеневих сосочків, маргінальної та альвеолярної частини ясен: колір, набряк, консистенцію, рельєф ясенного краю, відсутність або наявність симптому кровоточивості, набряку, локалізацію та розповсюдженість симптоматичного гінгівіту, стан пародонтальних кишень тощо. Диференційну діагностику ясенних та пародонтальних кишень проводили за допомогою формалінової проби за С. Parma [1960]. Крім того, враховували кількість та характер ексудату (S. Sorin, 1960).

Про стан кістки альвеолярного відростка судили за результатами рентгенологічного дослідження - внутрішньоротова контактна рентгенографія. Рентгенографію кістки коміркового відростка проводили внутрішньоротом та позаротовим методами.

Особливу увагу приділяли виявленню та оцінці характеру зубних відкладень, їх виду, консистенції, кількості, локалізації. З цією метою проводили визначення гігієнічних індексів.

Кількісну оцінку стану запалення ясен проводили за допомогою папілярно-маргінально-альвеолярного індексу (РМА) за I.Schour, M.Massler (1948) у модифікації С.Parma [1960]. Для підвищення достовірності оцінки стану пародонта також використовували спрощений індекс гігієни рота ОНІ-S (Oral Hygiene Index – Simlified) за Green-Vermillion (1964). Кровоточивість ясен оцінювали за допомогою індексу РВІ за (Saxer-Muhlemann) 1975 [32,264,294,334,348,349,351].

Патологічну рухомість зубів визначали за Д.А.Ентіним [158].

Лікування хворих на генералізований пародонтит проводили загальноприйнятими методами згідно з протоколами лікування МОЗ України (2004) в рамках заходів, передбачених у Фазі I лікування генералізованого пародонтиту. Пацієнти основної групи в якості антибактеріальної терапії отримували оральні аплікації фітогелю «Нанозолото».

І н д е к с н а о ц і н к а с т а н у п а р о д о н т а

Пародонтальні індекси дозволяють контролювати динаміку захворювання протягом тривалого часу, оцінювати глибину та розповсюдженість патологічного процесу, порівнювати ефективність різних методів лікування, проводити математичну обробку отриманих результатів. Вони поділяються на зворотні, незворотні та складні. За допомогою зворотніх індексів оцінюється динаміка захворювання пародонту, ефективність лікувальних заходів за вираженістю таких симптомів, як запалення і кровоточивість ясен, рухливість зубів, глибина ясенних і пародонтальних кишень. Найбільш поширені з них - індекс РМА, пародонтальний індекс Рассела і ін. До цієї ж групи можна віднести гігієнічні індекси (Федорова-Володкиной, Green-Vermillion, Ramfjord та інші) [311,332,348,349,]. Незворотні індекси характеризують вираженість таких симптомів захворювання пародонту, як резорбція кісткової тканини

альвеолярного відростка, атрофія ясен (рентгенологічний індекс, індекс ясенної рецесії та інші). За допомогою складних пародонтальних індексів дають комплексну оцінку стану тканин пародонту. Наприклад, при обчисленні індексу Kotschke враховуються індекс РМА, глибина пародонтальних кишень, ступінь атрофії ясеневого краю, кровоточивість ясен, ступінь рухливості зубів, йодне число Свракова.

В данному дослідженні стан тканин пародонта оцінювали за допомогою індексів РМА, ОНІ-S, індекс кровоточивості РВІ, а також показників глибини пародонтальних кишень, рухливості зубів, наявності ексудату.

Кількісну оцінку стану запалення ясен проводили за допомогою папілярно-маргінально-альвеолярного індексу (РМА) за I.Schour, M.Massler (1948) у модифікації С.Parma [1960] (найбільш розповсюджений, дозволяє судити про розповсюдженість та важкість перебігу гінгівіту). Індекс виражається в абсолютних цифрах або у відсотках (С.Parma, 1960) [351].

Для підвищення достовірності також використовували спрощений індекс гігієни рота ОНІ-S (Oral Hygiene Index – Simlified) за Green-Vermillion (1964) [311]

Індекс Гріна-Вермільйона простий у використанні, точний, добре відтворюється (85-96%) і вважається найбільш інформативним. За даними Леуса П.Л. та соавт. (1992), встановлено, що індекс з віком збільшується за рахунок утворення зубного каменя. Як правило, посилення утворення нальоту та твердих зубних відкладень відбувається на нижній щелепі у фронтальній і дистальній ділянках зубного ряду з язичного боку, а на верхній щелепі дистальних ділянках зубного ряду з вестибулярного боку. Застосування цього індексу дозволяє також оцінити ефективність професійної гігієни порожнини рота.

Папілярний індекс кровоточивості (papilla bleeding index, РВІ) по Saxer і Muhlemann (1975). За цим індексом визначають виникнення кровоточивості сосочків після обережного зондування ясенної борозни. Використовуючи РВІ,

можна простим і точним способом контролювати перебіг запальних захворювань пародонта.

Зонування здійснюють на язичній поверхні першого і третього квадрантів і на вестибулярних поверхнях другого і четвертого квадрантів. Значення індексу визначають окремо для кожного квадранта і потім виводять середнє значення для всього прикусу. Оцінка індексу здійснюється протягом 30 секунд після зондування.

2.3.4 Біохімічні дослідження

Визначення дизбіозу:

Існує декілька методів визначення дизбіозу: мікробіологічні; молекулярно-біологічні; імунологічні; лазерно-флюорисцентні; біохімічні; ферментні [133].

В данному дослідженні застосовували ферментативний метод визначення дизбіозу порожнини рота (в більшій мірі відображає результат взаємодії макрота мікроорганізмів на відміну від інших методів, які враховують кількісні зміни тільки мікробіоти). Перевагою цього методу є його простота, швидкість, об'єктивність та значна економічність, що є суттєвим при дослідженні великої групи населення, а також для скринінгу про- та пребіотиків [134].

Розрахунок ступеня дисбіозу (СД) порожнини рота визначався за співвідношенням відносних активностей уреаз (У відносна) та лізоциму (Л відносна) [133,134]:

$$СД = \frac{У \text{ відносна}}{Л \text{ відносна}} ,$$

де «У відносна» – це активність ферменту уреаз (не виробляється соматичними клітинами, синтезується рослинними клітинами та більшістю

УПМ та патогенних бактерій). яка залежить від кількості мікробів порожнини рота, при виключенні із раціону харчування сирих бобів [129,131,133]; а «Л відносна» - це показник стану антимікробних систем, активність якого тісно корелюється з рівнем неспецифічних і навіть специфічних антимікробних факторів макроорганізму [130,138]. Зміна активності лізоциму в слині в порівнянні з рівнем цього ферменту у здорових людей свідчить про посилення або послаблення антимікробних сил, що вказує на стан адаптивної реакції макроорганізму.

В нормі, у здорових людей цей показник дорівнює 1. При дизбіозі показник СД >1. Чим більш виражений дизбіоз, тим вище значення цього показника.

Визначення рівня медіаторів запалення у вогнищі запалення

Визначення медіаторів запалення досить складне та потребує спеціального обладнання та коштовних реактивів, що утруднює і робить неможливим проведення оцінки в клінічних умовах. Більш простими та доступними є методи визначення активності ферментів або кінцевих або проміжних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Кінцевим продуктом ПОЛ є малоновий диальдегіл (МДА), який утворюється при окисленні лінолевої кислоти. Із деструктивних ферментів легше визначати активність протеаз. Іноді в якості маркера запалення використовують визначення активності кислої фосфатази (КФ).

Визначення активності еластази

Активність еластази визначали за ступенем гідролізу синтетичного субстрату N-t-BOC-L-alanine-p-nitrophenyl ester (BOC) («Sigma», USA) за методом Visser (1972); виражається в мікрокаталах на 1л ротової рідини (1 катал – це активність еластази, яка каталізує відщеплення 1 моля п-нітрофенолу за 1 секунду) [132].

Визначення активності кислої фосфатази (КФ)

З цією метою застосовували метод Bessy (1946) у модифікації А.П. Левицького та інш. (1973), заснований на тому, що фосфатази відщеплюють п-нітрофенол від синтетичного субстрату п-нітрофенілфосфату. Утворений п-нітрофенол дає в лужному середовищі забарвлення, інтенсивність якого пропорційна активності ферменту [132].

Визначення антиоксидантно-прооксидантного індексу АПІ

АПІ дуже чутливий, реагує на зміни статусу антиоксидантно-прооксидантних систем. Для розрахунку індексу АПІ в якості показника антиоксидантної системи використовують активність каталази, а показники прооксидантної системи – концентрацію МДА [132].

Визначення антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) проводили за методикою [132].

2.4 Фармакологічна характеристика складових композиції мукозального гелю модифікованого наночастинками золота

2.4.1 Склад, структура та якості силікагелів з наночастинками благородних металів

Наночастки мають унікальні хімічними і біологічними властивостями, що лежать в основі їх лікувально-профілактичних ефектів [1, 2]. У Київському національному університеті ім. Т.Г. Шевченко на кафедрі неорганічної хімії розроблена технологія отримання наночастинок золота і срібла, адсорбованих на дрібнопористу кремнезему [3]. Була розроблена технологія вирощування металевих (золотих) наночастинок з пористої матриці кремнеземів, а також комбінований хіміко-мікробіологічний метод формування

ультрадисперсних фаз срібла в клітинах мікроорганізмів різних таксономічних груп, використовуючи в якості відновлювача гідразин-сульфат [219].

Була розроблена технологія вирощування металевих (золотих) наночастинок з пористої матриці кремнеземів, а також комбінований хіміко-мікробіологічний метод формування ультрадисперсних фаз срібла в клітинах мікроорганізмів різних таксономічних груп, використовуючи в якості відновлювача гідразин-сульфат [219].

Для цього були обрані культури, що відносяться до різних таксономічних груп мікроорганізмів - штам дріжджів *Candida albicans* УКМ-690 з колекції Інституту мікробіології ім. Д. К. Заболотного НАН України, також культури *Bacillus cereus* ВКПМ В5039, *Escherichia coli* ВКПМ В1238 і *Pseudomonas fluorescens* ВКПМ В5040 з колекції Інституту біологічної хімії ім. Ф.Д.Овчаренко НАН України. Штами підтримували на щільному агаризованому середовищі Luria Broth (LB) (Life Technologies, Scotland). Біомасу вирощували в рідкому LB середовищі при 26°C протягом 18 годин на качалці. Біомасу, що виросла, відокремлювали від культуральної рідини на центрифугі і відмивали двічі дистильованою водою.

Залежно від протоколу синтезу колоїду срібла на клітинах мікроорганізмів кількість і розмір наночастинок відрізнялися [219]. Методика отримання так званого «внутрішнього» осаду передбачала первинне насичення клітин іонами срібла і включала наступні процедури.

Використаний метод відновної сорбції, що включає послідовну хімічну обробку біомаси іонами металу і відновником, дозволив використовувати дифузійні і сорбційні властивості клітинної стінки і управляти швидкістю фазоутворення. У режимі «внутрішнього» осадження клітинну стінку попередньо насичували сріблом. При подальшій обробці клітин, насичених іонами срібла, внесеним відновником N_2H_4 H_2SO_4 , дифузійний фронт іонів срібла переміщався з клітки назустріч відновнику, дифундує в клітинну стінку. Обидва фронти зустрічалися в поверхневому шарі клітинної стінки, де відбувався процес утворення зародків наночастинок срібла. Відновлення

проводили з розчинів AgNO_3 в діапазоні концентрацій від 5×10^{-2} до 5×10^{-6} М за допомогою відновника сульфату гідразину.

Хімічний аналіз, результати якого представлені в табл. 2.2, підтвердив збагачення нанобіокомпозитів сріблом пропорційно вмісту срібла в розчині інкубування. Максимальний вміст складав 5,3% (від сухої речовини дріжджів) при концентрації в розчині 50 ммоль / л.

Таблиця 2.2

Вміст срібла в розчині інкубування

Культури мікроорганізмів	Вміст Ag, мг/г (сух. речовини)	
	0,05 моль/л	0,01 моль/л
<i>C.albicans</i> УКМ690	52,57	10,16
<i>Bxereus</i> B5039	34,18	7,40
<i>P.fluorescens</i> B5040	55,11	—
<i>Exoli</i> B1238	47,89	9,36

Відновлювальна процедура, яку проводили в гравітаційному полі, ініціюючи нуклеацію, сприяла фіксації утворених срібловмісних частинок в матриці клітини. Обидва чинники сприяли накопиченню більшої кількості срібла в клітині.

Як видно, кількість і дисперсність монофаз срібла залежать від будови матриці (клітинної стінки). В клітинах дріжджів, що мають товсту клітинну стінку (до 200 нм), формувалися дуже дрібні наночастинки частинки з середнім розміром 1,6-1,7 нм. У матрицях бацил, псевдомонад і кишкової палички формувалися більші частки срібла, що мають середній розмір 2,14-2,47 нм.

Розміри наночастинок, отриманих за процедурою «внутрішнього» (1,7нм) і «зовнішнього» (1,6нм) осадження, відрізнялися мало з невеликою тенденцією

в бік зменшення розміру останніх. Крім того, так званий «зовнішній» осад з наночастинок погано утримувався клітиною і частково потрапляв у розчин.

Спектральний аналіз композитів на основі мікроорганізмів різних таксономічних груп показав, що в клітинах формуються стабільні ізольовані наночастишки срібла з середнім розміром 1,6-2,5нм. Нанокompозити в гліцерині зберігали стійкість більше 2-х місяців, що підтверджувалося відтворенням їх спектральних характеристик. Даний підхід може бути використаний для формування нанобіокompозитів широкого складу.

Саме по собі золото не є каталітично і біологічно активним. На відміну срібло широко застосовують в медицині у силу його біологічної активності як у вигляді макроформ, так і в формі наночастинок. Немає єдиної думки, з яких причин змінюється хімічна та біологічна активність золота при зменшенні його розмірів до декількох нанометрів. Вважають, що активність кластерів золота проявляється в результаті наявності в них «крайніх» атомів - атомів з недостатнім координаційним оточенням, тобто атомів на поверхні і ребрах граней наночастинок.

Також застосовують два методи приготування металевих наночастинок золота «гарячий» і «холодний».

Так званий «гарячий» метод включає в себе наступні послідовні операції. Перша стадія - сорбція золота з розчину золотохлористоводневої кислоти на досліджених ХМК. Для цього в колбу ємністю 100 мл вносили точну наважку сорбенту, який заливали 50мл дистильованої води. В подальшому в нього краплями при інтенсивному перемішуванні на магнітній мішалці додавали задану кількість розчину золота. Після додавання всього золота суспензію перемішували ще 10хв. Далі сорбент фільтрували, промивали дистильованою водою і висушували. При такому підході забезпечується кількісна сорбція іонів золота і однорідність його розподілу на розглянутих сорбентах. Далі отримані сорбенти прожарювали при температурі 600°C протягом 1 години. При цьому вигорає органічна складова сорбентів, і комплекс золота розкладається до металевих наночастинок золота. Збільшення температури і (або) часу

прожарювання веде до збільшення розміру часток золота, що дозволяє регулювати розміри частинок золота на поверхні кремнеземних матриць.

Цим методом отримані кремнеземи з концентрацією золота від 50мкг/г кремнезему і до 1000мкг/г. При більш високих концентраціях визначення розміру часток методом плазмового резонансу утруднено через непрозорість одержуваних матеріалів.

Для отримання зразків заданої концентрації попередньо визначали втрату маси при прожарюванні для кожного з використовуваних ХМК. Для цього три паралельних навіски ХМК прожарювали при 600°C протягом 1 години і зважували. З урахуванням цих даних розраховували кількість стандартного розчину золота, необхідного для отримання зразків із заданим вмістом золота.

Концентрацію золота на поверхні кремнезему визначали хімічно. Для цього 5 паралельних наважок кип'ятили в царській горілці. Після цього розчин фільтрували від кремнезему і визначали концентрацію золота в фільтраті атомно-адсорбційним методом на спектрофотометрі САТУРН-ЗП-М1. Також визначали пробу золота, яка становила 0,1 г сорбенту при мінімальній концентрації золота на поверхні.

Другий так званий «холодний» метод отримання наночастинок полягає в тому, що сорбоване Au на поверхні ХМК відновлюють боргідридом натрію в водній фазі при кімнатній температурі. При цьому слабке забарвлення зразків стає помітним при концентраціях Au на поверхні кремнезему, які перевищують 1000мкг/г.

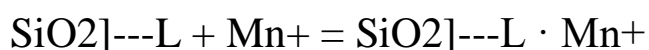
Аналіз спектральних залежностей відповідних експериментальних зразків показав, що «гаряча» технологія забезпечує вирощування металевих частинок Au розміром - 1нм та більше.

Характер спектру зразків, отриманих методом «холодної» технології вказує на те, що сформовані наночастинки Au мають розмір близько 8,5А. При цьому видимі частинки становлять лише близько 7% від уведеного в зразок золота. Таким чином, більша частина золота знаходиться на поверхні у вигляді

частинок розміром меншим 4А, тобто недостатнім для створення плазмового резонансу або в молекулярному нуль-валентному стані.

Якщо використовувати хімічно модифіковані сорбенти, що мають високу сорбційну активність до певного металу (забезпечують кількісну сорбцію металу з розчину), то це забезпечує високу точність визначення його поверхневої концентрації.

Процес сорбції можна представити наступною спрощеною схемою:



де:

- ✓ $\text{SiO}_2\text{]}$ – поверхня силікагелю
- ✓ ---L – прищеплена до поверхні органічна сполука
- ✓ Mn^+ - сорбований метал

Після одержання хімічно модифікованого силікагелю з сорбованим іоном металу ($\text{SiO}_2\text{]---L} \cdot \text{Mn}^+$) його відокремлюють від розчину фільтруванням, висушують і прокалюють при температурі 600-800 С. При такій температурі вся органіка «вигорає» а іони металів(золота та срібла) відновлюються до атомарного стану. Атоми, що знаходяться на певній відстані один від одного, мігрують уздовж поверхні, утворюючи кластери певного розміру. Їх величина (від кількох нм до кількох десятків нм) залежить від температури і часу прокалювання та концентрації сорбованого металу.

Їх прожарювали при температурі 600⁰ С, при якій з силікагелю вигоряють всі органічні речовини. Силікагель, прожарений при 800⁰ С, необоротно втрачає здатність поглинати вологу (стає гідрофобним). Тому представляв певний інтерес зіставити біологічну активність зразків, прожарених при 600⁰ С, з такими ж зразками, прожареними при 800⁰ С (табл. 2.3).

Присутність в структурі запропонованого матеріалу наночастинок, що містять благородний метал, підтверджували електронно-мікроскопічними дослідженнями, а їх розміри визначали за результатами дослідження методом поверхневого плазмового резонансу.

Таблиця 2.3

Зразки матеріалів, взятих для дослідження

№ Зразка	Концентрація наночастинок металу (мікрограм/г сорбента)		
	Золото (Au)		Срібло (Ag)
	Температура прокалювання		
	600° С	800° С	
1	50 мкг/г		
2	100 мкг/г		
3			тах кількість, яку можна нанести - біля 400мкг/г
4	400 мкг/г		
5	200 мкг/г		
6		50 мкг/г	
7		100 мкг/г	
8		200 мкг/г	
9		тах кількість, яку можна нанести - біля 400мкг/г	

Для підтвердження міцності закріплення металовмісних наночастинок на поверхні частинок сорбенту та однорідності розподілу благородного металу в матеріалі отриманні зразки вивчались за допомогою рентгенофлуорисцентного аналізу.

З метою вивчення стійкості нового матеріалу в часі щомісячно проводили оцінку отриманих зразків за основними показниками: маса, вміст благородного

металу, однорідність його розподілення в масі матеріалу. В результатах проведених протягом одного року спостереження не було відмічено ніяких значимих змін вказаних показників, свідчить про стійкість матеріалу в часі.

Всебічні дослідження складу, структури та якостей отриманого матеріалу показали відповідність його показників основним вимогам, які висувають до матеріалів для виготовлення стандартних зразків що тестуються. А з урахуванням також інших відомих високих якісних показників силікагелевої основи (висока механічна міцність, хімічна інертність, стійкість до дії високих температур та опромінення) очевидна перспективність застосування матеріалу [219].

2.4.2 Мукозальні гелі – склад, механізм дії, переваги застосування

У стоматології для лікування запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота, пародонтозу, мови часто використовують лікарські засоби з в'язкими властивостями (гелі). В'язкі речовини, торкаючись з поверхнею слизовою оболонкою, проникають в міжклітинний простір, в клітини тканин і судин, осаджують білки ферментів, утворюють щільні плівки альбуминатов.

Гелі мають пролонговану дію, мають просту технологію і комфортні в застосуванні, що робить доцільним і зручним їх застосування в стоматологічній практиці.

Гель поєднує в собі властивості твердого тіла і рідини, тому дуже ефективний при аплікаціях. Крім того, завдяки утворенню водних внутрішніх структур, гель дозволяє включати до його складу хімічно несумісні речовини, так як водна оболонка перешкоджає хімічній реакції між ними. Особливі властивості гелю - одночасно твердого тіла і рідини, роблять його засобом нового покоління в стоматології. Як тверде тіло, гель має здатність затримуватися на зубах, забезпечуючи обробку зубів лікарською речовиною. Як рідина, гель ефективний при аплікаційній дії і електрофорезі.

У стоматологічній практиці гелі використовуються в декількох напрямках: для профілактики карієсу і захворювань слизової оболонки порожнини рота; для лікування; для відбілювання зубів.

Мукозальні гелі мають переваги перед розчинами та полосканням: дозволяють тривало утримувати лікувально-профілактичне або трофічний засіб на поверхні слизової; дають можливість збільшити діючу концентрацію фармпрепарату; дозволяють здійснювати локальний лікувально-профілактичний ефект без дії на інші тканини та органи; дозволяють значно знизити витрати коштовних фармпрепаратів; дають можливість суттєво знизити побічну дію лікувальних засобів.

В основі мукозальних гелей гідрофільні полімери, такі як природні полісахариди, які не гідролізуються ферментами макроорганізму, модифікована целюлоза (карбоксиметилцелюлоза у вигляді натрієвої солі) декстрини та синтетичні полімери (полівініловий спирт). В якості діючої речовини до складу мукозального гелю можуть входити антисептики, антибактеріальні речовини, поліфеноли, гіалуронова кислота, колаген, вітаміни, гепарин, гормони, ферменти та інші з'єднання [233,234].

Здатність діючої речовини проникати в глибину слизової визначається, насамперед, розмірами його молекул.

Протипоказанням для застосування різних фармзасобів є їх здатність викликати подразнення та біль.

В Інституті стоматології НАМН розроблені нові ефективні мукозальні гелі до складу яких введено лізоцим та фотолізоцим, лізомукоїд, кверцитін, пребіотики інуліна, або стахіози, екстрактів з листя винограду, сої, паростків пшениці, гіалуронової кислоти, гепарину.

Експериментальні дослідження цих гелів на моделях різних стоматологічних захворювань (стоматити, пародонтити, гінгівіти, періодонтити, періімплантити, ускладнення після хірургічних операцій) показали високу ефективність розроблених рецептур гелей. Міністерством

охорони здоров'я було видано гігієнічне заключення № 05.03.02-07/50924 від 24.05.2012 для їх можливого застосування.

В данній дослідницькій роботі було використано лізоцимвмісний мукозальний гель.

Лізоцим – це гідролітичний фермент що розщеплює полісахариди оболонки мікробних клітин, має бактеріолітичну, імуномодулюючу та адаптаційно-трофічну дію [130]. Рівень лізоциму в деяких біологічних рідинах (сльоза, слина, кишковий сік та інш.) визначає їх стійкість до мікробної інвазії та зумовлює їх здатність до збереження стану здоров'я органів та тканин що їх секретують.

Препарати лізоциму із яєчного білка застосовуються в медицині, зокрема в стоматології («Лісобакт», пробіотик «Біфіліз», еліксири зубні «Лізодент» та «Лізомукоід») [230].

Рецептура мукозальних гелів, що містять яєчний лізоцим («Лізоцим»), капустний лізоцим («Фітолізоцим»), капустний лізоцим, адсорбований на хітозане («Хітолізоцим»), яєчний лізоцим+овомукоід («Лізомукоід»).

Мукозальні гель, що містять лізоцим, випускається НПА «Одеська біотехнеологія» в тубах по 30г. Застосовуються ці гелі у вигляді аплікацій 0,5-1г гелю на поверхню слизової щочки або язика, на ясна, на афти або виразки на поверхні слизової щочки.

Аплікації гелю проводять після їжі, і після нанесення на слизову порожнину рота гелю не вживають їжу та напої протягом не менш 30хв.

Профілактичне застосування лізоцимвмісних гелей можна обмежити двома аплікаціями в день (ранок та вечір). Лікувальне застосування – 3-4 рази на добу. Загальний курс застосування гелів – 5-7 днів.

Головним результатом застосування лізоцимвмісних мукозальних гелів є усунення явищ дизбіозу, що лежить в основі розвитку більшості стоматологічних захворювань та їх ускладнень.

Контролювати ефективність лізоцимної терапії можливо не тільки за клінічними проявами, але також за допомогою біохімічних маркерів запалення та показників ступеня дизбіозу за Левицьким [134].

2.4.3 . Розробка рецептури мукозального гелю «Нанозолото»

Задачею даного дослідження стало створення фармакологічної композиції, до складу якої введені наночастинки золота, адсорбовані на силікагелі, для лікування запальних захворювань пародонта.

Поставлена задача вирішується тим, що фармакологічна композиція для лікування і профілактики захворювань пародонта відрізняється вмістом наночасточок золота з вираженою антибактеріальною дією. Вона не викликає побічних ефектів (зміна кольору зубів і слизової оболонки, десквамація епітелію слизової оболонки, порушення смакових відчуттів, виникнення дисбактеріозу в порожнині рота) і загострення патологічного процесу, придатна для тривалого застосування (табл. 3.3).

Рецептура досліджуваного мукозального гелю «Нанозолото» приведена в таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Співвідношення компонентів фітогелю

Найменування сировини	Вміст, %
Силікагель, що містить наночастинки золота	4,0-6,0
Концентрат м'яти спиртовий	9,0-11,0
Натрій карбоксиметилцелюлоза	2,5-4,0
Вода дистильована	До 100

Для вивчення властивостей мукозального гелю було проведено:

1. Дослідження гострої та хронічної токсичності гелю при нанесенні на шкіру.
2. Оцінка гострої та хронічної токсичності гелю при введенні в шлунок.
3. Оцінка шкірно-подразнювальної дії.
4. Оцінка подразнювальної дії гелю на слизову оболонку порожнини рота.
5. Оцінка сенсibiliзувальної дії.

Дослідження гострої та підгострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» проводили відповідно з «Методичними вказівками по експериментальному (фармакологічному) та клінічному випробуванню гігієнічних та лікувально-профілактичних засобів по догляду за порожниною рота» Державного фармакологічного центру України. Окремі показники оцінювали, використовуючи методи, представлені в методичних рекомендаціях.

2.5 Методика лікування хворих

Для досягнення мети та вирішення задач даних досліджень були застосовані різноманітні методологічні підходи аналізу стану тканин пародонта та оцінки якості проведеного лікування.

Схема обстеження та лікування хворого будувалась за принципом індивідуального підходу до кожного пацієнту та складалась з наступних етапів:

1. Клінічне дослідження – опитування, огляд, об'єктивне дослідження стану зубів, тканин пародонтального комплексу, прикусу та інше
2. Індексна оцінка стану гігієни порожнини рота (індекс ОНІ-S)
3. Індексна оцінка стану пародонта (індекс РМА)
4. Лабораторні методи дослідження
5. Біохімічні методи дослідження
6. Рентгенологічні дослідження.

Всі дослідження проводили до лікування, після завершення початкового етапу лікування та на етапах спостереження.

Для лікування пацієнтів з генералізованим пародонтитом I ступеня нами було розроблено та запропоновано для клінічного застосування алгоритм лікування запально-дистрофічного захворювання.

В комплексному лікуванні пацієнтів основної групи було застосовано загальноприйнятту базисну терапію згідно з протоколами лікування МОЗ України (2004) із застосуванням мукозального гелю «Нанозолото», а контрольна група із застосуванням гелю «Метрогіл дента».

Пацієнтам з генералізованим пародонтитом I ступеню хронічного перебігу проводили лікування за алгоритмом №1.

В перше відвідування проводили наступний комплекс лікувально-профілактичних заходів:

1. Навчання пацієнтів індивідуальній гігієні порожнини рота з обов'язковим контролем її виконання. Використовувати дві зубні пасту – з антисептичними складовими (хлоргексидин, триклозан), та з фіто-добавками (відвари , екстракти трав та рослинні масла).

2. Надання рекомендацій щодо корегування харчового раціону пацієнтів.

3. Усунення місцевих факторів ризику, які могли б погіршити стан пародонта пацієнтів (видалення зубних відкладень, пломбування каріозних порожнин або заміна пломб на контактних поверхнях зубів, заміна неякісних зубних протезів).

4. Після обстеження і складання плану комплексної терапії проводили професійну гігієну порожнини рота. Контроль гігієни порожнини рота здійснювали впродовж всього курсу лікування.

На заключному етапі першого відвідування проводили місцеве медикаментозне лікування - аплікацію на ясна і введення в пародонтальні кишені протягом 10-15хв пасту залежно від групи дослідження: в контрольній групі застосовували для аплікацій пасту «Метрогіл дента», а в основній – аплікації мукозального гелю «Нанозолото». Для подовження терміну їх дії в деяких випадках на ясна накладали пародонтальну пов'язку «Reso-Pac» (Miradent). На використання фітогелю «Нанозолото» отримано дозвіл

Міністерства охорони здоров'я України (РЦ У 20.4-13903778-032/3:2013. Гігієнічний висновок №05.03.02-07/5292 від 28.01.2014р.). Його згідно з ТУ У 20.4-13903778-032:2012 випускає НВА «Одеська біотехнологія» у вигляді пластикових контейнерів з дозуючим пристроєм по 50мл.

Пацієнти контрольної групи в домашніх умовах виконували оральні аплікації на ясна гелю «Метрогіл дента» 1,0мл два рази на добу (вранці та ввечері) за 30хв до прийому їжі протягом 30 днів.

Пацієнти основної групи додатково до базового лікування отримували для оральних аплікацій в домашніх умовах мукозальний гель «Нанозолото» у кількості 1,0мл щоденно перед сном протягом наступних 30 днів.

Порівняльний клінічний контроль гігієнічного стану порожнини рота та лікування у даних груп хворих проводили через тиждень, два, місяць і вносили відповідні корективи.

Лікування та спостереження закінчували тільки після отримання позитивних клінічних результатів, індексної оцінки стану ясен та гігієни порожнини рота.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ ЛІКУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ МУКОЗАЛЬНОГО ГЕЛЮ МОДИФІКОВАНОГО НАНОЧАСТИНКАМИ ЗОЛОТА

3.1. Дослідження антибактеріальної активності високодисперсного силікагелю з наночастками золота

3.1.1 Вивчення *in vitro* антимікробних властивостей високодисперсних гелів, що містять на своїй поверхні наночастинки золота.

В якості тест-мікроорганізмів були використані штами *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* та змішана мікрофлора з пародонтальних кишень.

Для визначення антимікробної дії досліджуваних зразків (сполуки №№ 1-9) були обрані різні за таксономічним положенням грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також дріжджеподібні гриби роду *Candida albicans*. Це були референтні тестові штами мікроорганізмів, отримані з музею живих культур лабораторії загальної мікробіології інституту Київського НДІ епідеміології і інфекційних хвороб АМН України.

Приведені в таблиці 3.1 дані свідчать про те, що сполуки №№ 1 і 2 не проявляють антибактеріальної активності по відношенню до всіх досліджуваних референтних тестових штамів мікроорганізмів. Сполуки №№ 3 - 9 виявляють виражену активність як до грамнегативної мікрофлори (*E.coli*), так і до грампозитивної - *S.aureus*. По відношенню до грибів роду *Candida albicans* були активними лише сполуки №№ 3, 4, 5 і 7. Найбільшу антибактеріальну активність до всіх досліджуваних мікроорганізмів, у тому числі і до грибів роду *Candida albicans*, виявляє сполука № 3 (що містить максимальну кількість наночастинок срібла).

Таблиця 3.1

Антимікробна дія досліджуваних зразків силікагелів з наночастками металів на референтні тестові штами мікроорганізмів

Вид мікроорганізмів	Діаметр зони затримки росту (в мм)								
	Досліджуваний матеріал (№ зразка)								
	3	1	2	4	5	6	7	8	9
	Ag 400 mkg/ g	Au							
600°C				800°C					
50 mkg/ g		100 mkg/ g	400 mkg/ g	200 mkg/ g	50 mkg/ g	100 mkg/ g	200 mkg/ g	400 mkg/ g	
S.aureus 25923	20	0	0	18	16	16	17	16	21
E.coli 001048	17	0	0	18	17	15	16	16	17
C. albicans 885	32	0	0	16	13	0	16	0	0

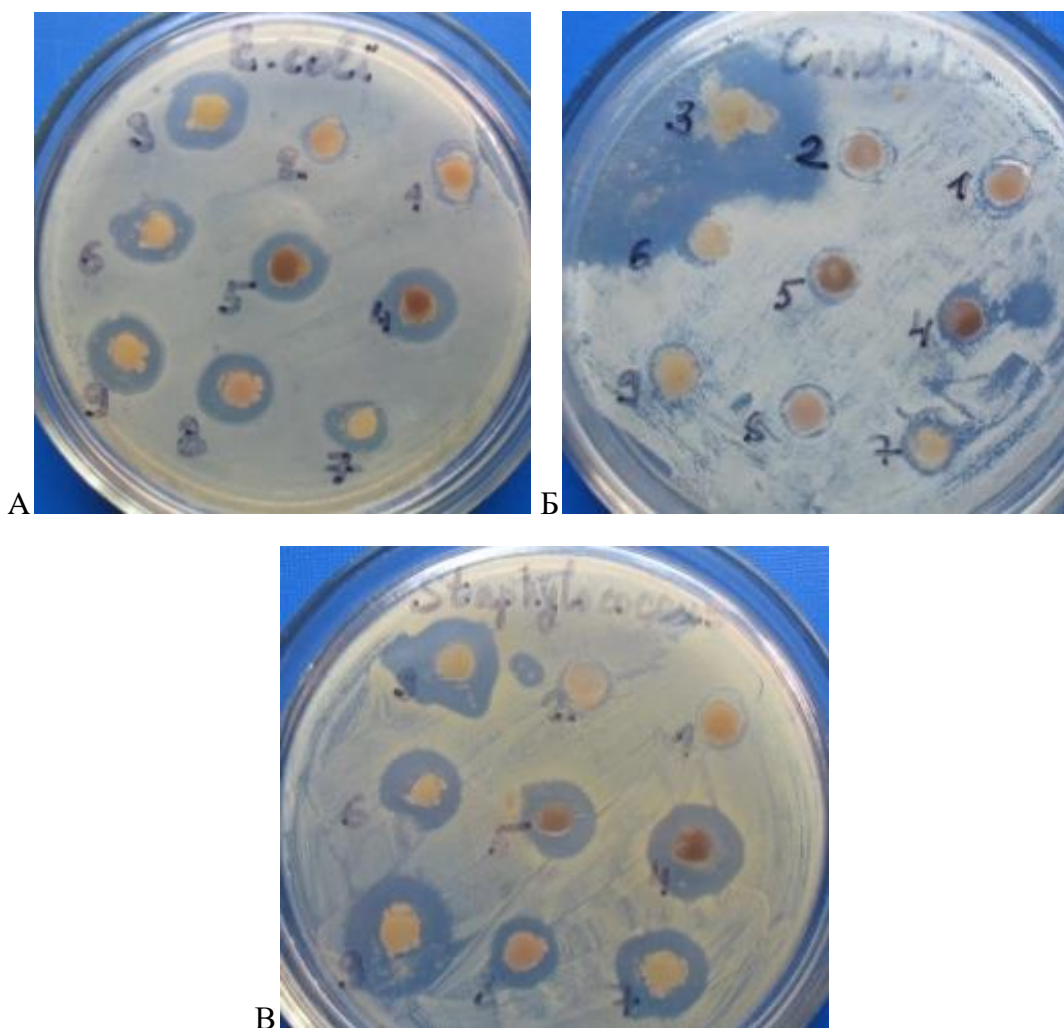


Рис. 3.1. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів (зразки №№ 1 - 9) на референтні тестові штами мікроорганізмів: **А** – *E. coli*; **Б** – *Candida albicans*; **В** - *S.aureus*

У роботі також була досліджена антибактеріальна активність нанопрепаратів золота і срібла стосовно змішаної мікрофлори, виділеної з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

Як видно з приведених в таблиці даних, при застосуванні кров'яного МПА для визначення чутливості змішаної мікрофлори пародонтального кишені до досліджуваних сполук всі зразки показали виражену антибактеріальну активність. Зони затримки росту корелюють з даними, отриманими при дослідженні референтних штамів бактерій (табл. 3.2). Найбільшу антибактеріальну активність до досліджуваних мікроорганізмів виявляє сполука № 3 (що містить максимальну кількість наночастинок срібла).

Таблиця 3.2

Антимікробна дія досліджуваних зразків силікагелей з наночастинками металів на змішану мікрофлору пародонтальних кишень

<u>Характер патологічного вогнища змішаної мікрофлори</u>	<u>Діаметр зони затримки росту (в мм)</u>								
	Досліджуваний матеріал (№)								
	3	1	2	4	5	6	7	8	9
	Ag	Au							
		600 ⁰ C				800 ⁰ C			
400 mkg/ g	50 mkg/ g	100 mkg/ g	400 mkg/ g	200 mkg/ g	50 mkg/ g	100 mkg/ g	200 mkg/ g	400 mkg/ g	
Мікрофлора, виділена з пародонтальних кишень хворого на генералізований пародонтит	20	16	15	16	16	14	12	16	19

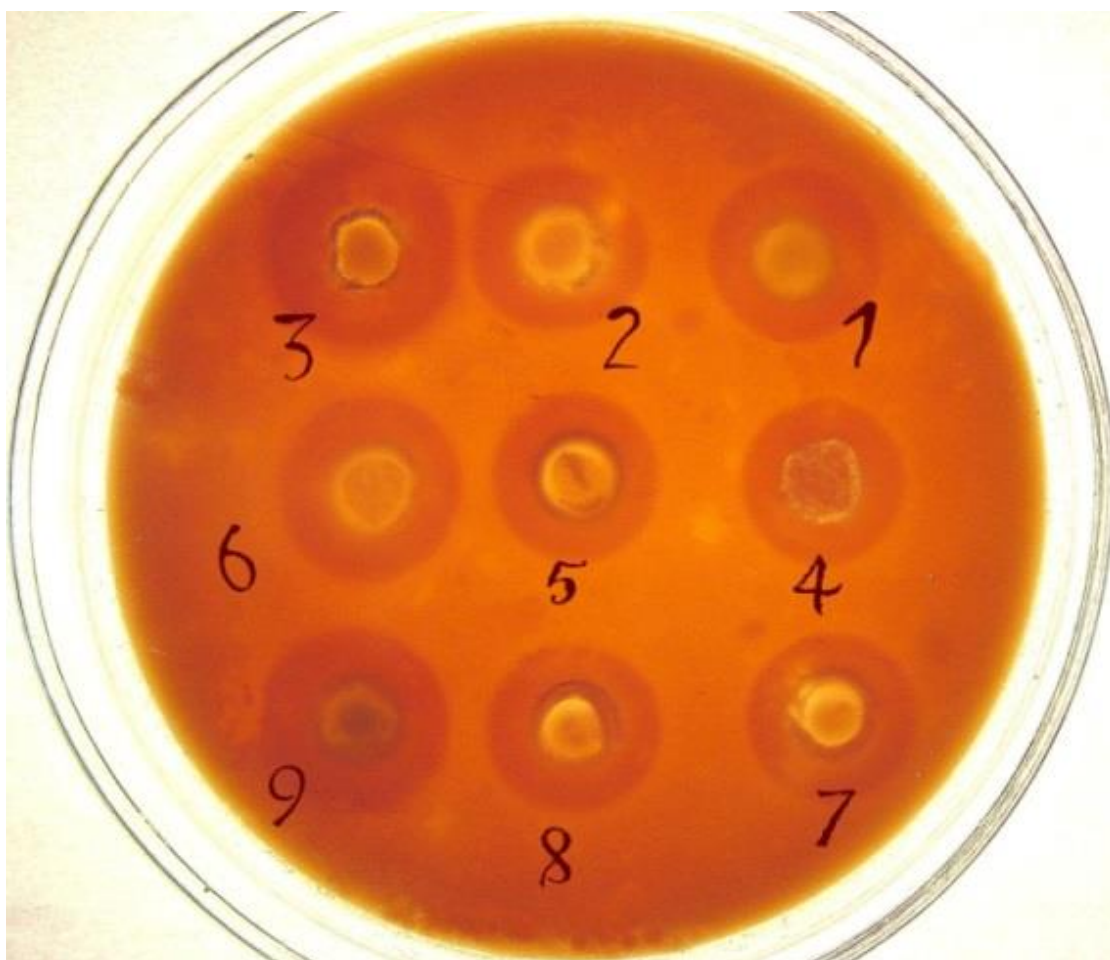


Рис. 3.2. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів (зразки №№ 1 - 9) на змішану мікрофлору пародонтальної кишені

У роботі також було досліджено методом дифузії в агар (метод «колодязів») [42] мікрофлору, виділену із зубних каналів хворих з різними патологічними процесами: хронічний гранулюючий періодонтит; кістогранульома; хронічний гранулюючий періодонтит (раніше лікований).

Наведені в таблиці 3.3 дані, при застосуванні кров'яного МПА для визначення чутливості досліджуваних сполук, всі сполуки проявили активність по відношенню до мікрофлори, виділеної із зубних каналів. Зони затримки росту корелюють з даними, отриманими при дослідженні референтних штамів бактерій (табл. 3.1): найбільшу антибактеріальну активність до досліджуваних мікроорганізмів виявляє сполука № 3 (що містить максимальну кількість наночастинок срібла). Причому, активність препаратів суттєво не змінюється залежно від періоду взяття досліджуваного матеріалу (до лікування каналу або у випадках раніше пролікованих каналів) - достовірної різниці в діаметрах зон

затримки росту мікроорганізмів немає. Це свідчить про чутливість виділеної мікрофлори до розробленого препарату наночастинок, навіть у випадку попереднього застосування антибактеріальних препаратів

Практично всі зразки, в тій чи іншій мірі володіють хорошою антимікробною активністю на мікробну флору кореневого каналу при різних запальних процесах в періапикальній ділянці.

Таблиця 3.3

Антимікробна дія досліджуваних зразків силікагелей з наночастинками металів на змішану мікрофлору зубних каналів хворих на хронічний періодонтит (кров'яний МПА)

Виділена мікрофлора	<i>Діаметр зони затримки росту (в мм)</i>								
	<i>Досліджуваний матеріал (№)</i>								
	3	1	2	4	5	6	7	8	9
	Ag	Au							
		600 ⁰ C				800 ⁰ C			
400 mkg/g	50 mkg/g	100 mkg/g	400 mkg/g	200 mkg/g	50 mkg/g	100 mkg/g	200 mkg/g	400 mkg/g	
1. Мікрофлора, виділена із зубного каналу хворого на хронічний гранулюючий періодонтит	16	0	0	16	16	16	16	13	15
2. Мікрофлора, виділена із зубного каналу хворого на хронічний гранульоматозний періодонтит (кістогранульома)	18	16	15	15	14	17	17	15	19
3. Мікрофлора, виділена із зубного каналу хворого на хронічний гранулюючий періодонтит (раніше лікований)	20	18	15	16	16	14	12	16	18

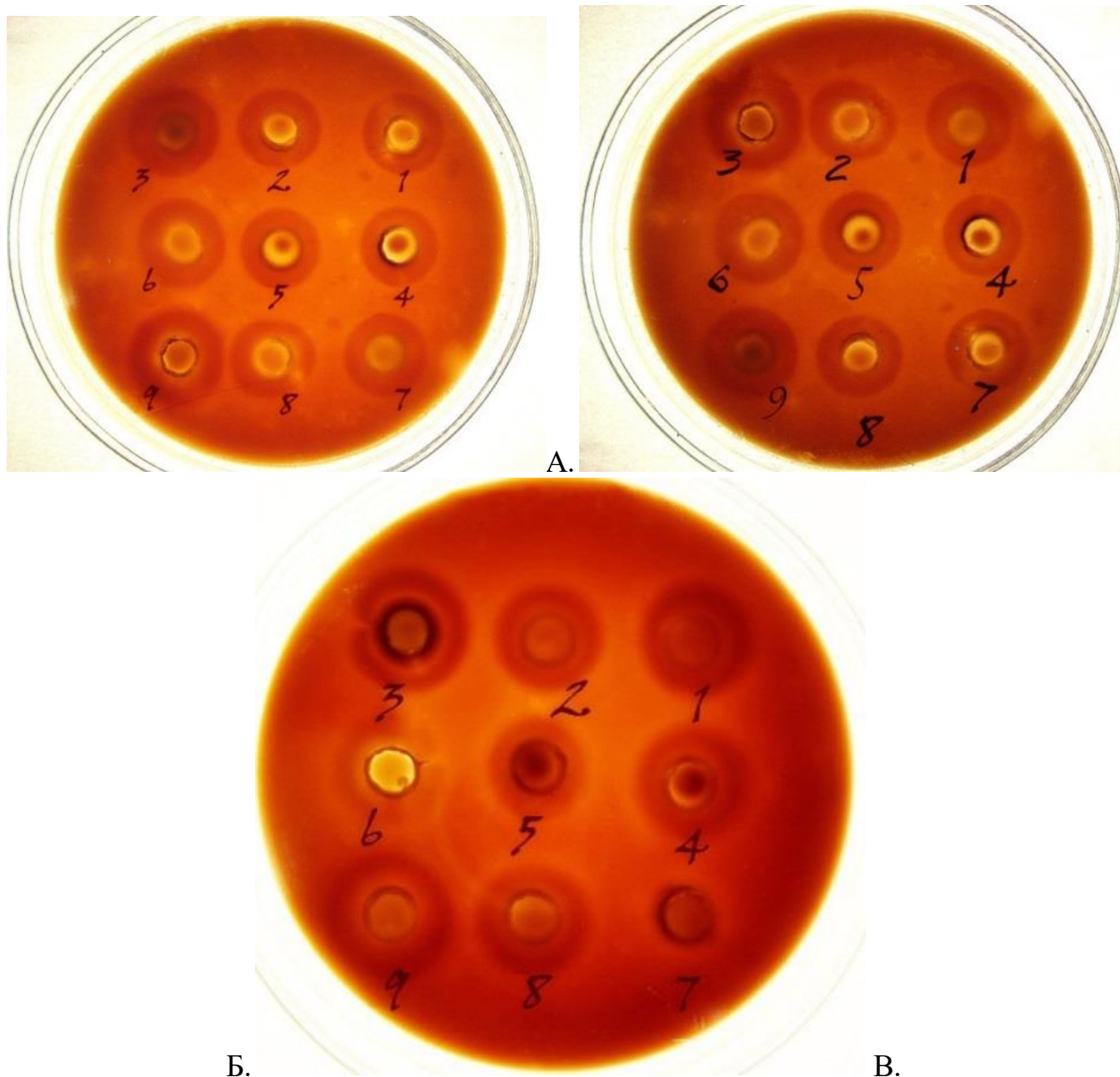


Рис. 3.3. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів (зразки №№ 1 - 9) на змішану мікрофлору кореневих каналів при: *А. Хронічному гранулюючому періодонтиті; Б. Кістогранульомі; В. Хронічному гранулюючому періодонтиті (раніше лікованому).*

Найбільш виражена антимікробна дія виявлена у зразків №3 та 9- силікагелі з максимальною концентрацією сорбованих наночастинок срібла та золота відповідно.

Таблиця 3.4

Антимікробна дія різних концентрацій досліджуваних сполук на змішану мікрофлору зубних каналів хворих на хронічний періодонтит (глюкозний МПА)

Виділена мікрофлора	Діаметр зони затримки росту (в мм)								
	Досліджувана сполука (№)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Мікрофлора, виділена із зубного каналу хворого на радикулярну кісту	-	-	16	-	-	-	-	-	-
2. Мікрофлора, виділена із зубного каналу хворого на хронічний гранулюючий періодонтит (раніше лікований)	-	-	18	-	-	-	11	-	12

Як видно із наведених в таблиці 3.4 даних, при застосуванні глюкозного МПА для визначення чутливості досліджуваних сполук проявили активність по відношенню до мікрофлори із зубних каналів лише сполуки №№ 3, 7 та 9. Ці дані корелюють з даними таблиці 4.1, де приведені результати дії досліджуваних препаратів по відношенню до грибів роду *Candida*. Такі результати, на наш погляд, пов'язані з тим, що на глюкозному МПА виросло набагато менше видів мікроорганізмів (переважно – гриби роду *Candida*) мікрофлори зубних каналів, порівняно з кров'яним МПА, на якому можуть рости такі мікроорганізми, як стрептококи, пептострептококи, фузіформні бактерії, мікрококи, дифтероїди, лактобактерії та інші.

Не виявлено достовірної різниці в діаметрах зон затримки зростання мікроорганізмів в зразках з різними розмірами наночастинок металів. Це дає підставу для клінічного використання силікагелів із сорбованими наночастками

золота різного розміру і концентрації для лікування запальних процесів в пародонті та пародонті.

Таким чином, було виявлено, що практично всі зразки силікагелів, в тій чи іншій мірі справляють антимікробну дію як на мікробну флору пародонтальних кишень та кореневого каналу при різних запальних процесах в них, так і на референтні тестові штами мікроорганізмів.

3.1.2 Порівняльне вивчення протимікробної активності силікагелю з наночастинками золота та антисептиків різних груп відносно тест-мікроорганізмів та змішаної мікрофлори з вогнищ запалення тканин пародонта

Для порівняльного дослідження визначення чутливості мікрофлори були використані наступні препарати [30]:

1. Високодисперсні силікагелі з наночастинками золота, що містять на своїй поверхні нанорозмірні кластери золота і срібла із заданою різною поверхневою концентрацією [50-400 мкг/г силікагеля] і розміром наночасточок благородних металів;
2. Умкалор - 1,2% - антибіотик рослинного походження (*Pelargonium sidoides*) – екстракт коренів герані;
3. Хлоргексидин - 0,05% - антисептик хлорумісних галогенових сполук;
4. Етоній - 0,5% - антисептик групи бісчетвертинних - амонієвих сполук;
5. Мірамістин - 0,01% - катионна поверхнево - активна речовина з антисептичною дією;
6. Хлорофіліпт - 1% - спиртовий розчин - рослинний антисептик (суміш хлорофілів листків евкаліпту).

В якості стандартних штамів в дослідженні використані *Staphylococcus aureus* (ATCC 27923), *Escherichia coli* (ATCC 27922), *Candida albicans* (885 663).

Також була досліджена змішана мікрофлора, виділена з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

Для визначення антибактеріальної дії досліджуваних зразків силікагелей був використаний вищезгаданий метод дифузії в агар [метод "колодязів"] [42].

Антимікробна активність високодисперсного силікагелю з наночастинками золота була порівняна з результатами дослідження антимікробної активності препаратів умкалор - 1,2%, етоній - 0,5%, хлоргексидин - 0,05%, мірамистин - 0,01%, хлорофіліпт - 1%.

Визначення чутливості вказаних вище препаратів у терапевтичних концентраціях проводили методом дифузії антибактеріального засобу в агар. З цією метою матеріал засівали на 5% кров'яний м'ясо-пептонний агар в кількості 0,1мл, розтирали шпателем до повного висихання.

Після цього в агарі робили лунки стандартного діаметру (6 мм) та вносили відповідні концентрації препаратів в кількості 0,08 мл. Чашки з посівами інкубували в термостаті при температурі 37° С - 24 години. Облік проводили, вимірюючи зони затримки росту бактерій для кожної групи препаратів, що досліджувались. Кожен із експериментів для статистичної достовірності повторювали 7-8 разів.

Для проведення аналізу отриманих результатів були використані методи біостатистики, розрахунки проводилася за допомогою пакету "R" v.3.2.0 (R Foundation for Statistical Computing, 2015) . Для надання даних розраховувалося середнє значення показника (\bar{X}) та стандартна похибка $\pm m$. Для проведення порівняння результатів використовувався критерій Крускала-Уолліса [174]. Критичний рівень значущості дорівнював 0,05.

Результати порівняння визначення антибактеріальної дії зразків силікагелей з наночастинками Au (рис.3.5) та антибактеріальних препаратів (рис.3.4) відносно стандартних тестових штамів відображено в табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Досліджувані препарати	Тест культури мікроорганізмів, $\bar{X} \pm m$, мм		
	<i>Staphilococcus aureus</i> (ATCC 27923)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 27922)	<i>Candida albicans</i> (885 663)
Високодисперсний силікагель з наночастинками золота	13,0 \pm 2,9	12,4 \pm 2,7	5,5 \pm 2,7
Умкалор - 1,2%	18,5 \pm 0,3	34,5 \pm 0,3	16,5 \pm 0,3
Хлоргексидин - 0,05%	18,5 \pm 0,2	16,5 \pm 0,2	11,9 \pm 0,2
Етоній - 0,5%	18,6 \pm 0,1	16,4 \pm 0,4	11,6 \pm 0,2
Мірамістин -0,01%	18,6 \pm 0,1	15,6 \pm 0,2	15,6 \pm 0,2
Хлорофіліпт - 1%	14,6 \pm 0,2	13,6 \pm 0,2	13,6 \pm 0,2

Велике значення похибки ($\pm m$) для A_u пов'язано з тим, що у деяких зразках діаметр затримки росту дорівнював 0. При проведенні порівняння не було виявлено відмінності середнього значення діаметру для A_u від значень, отриманих для інших досліджуваних препаратів ($p > 0,05$).

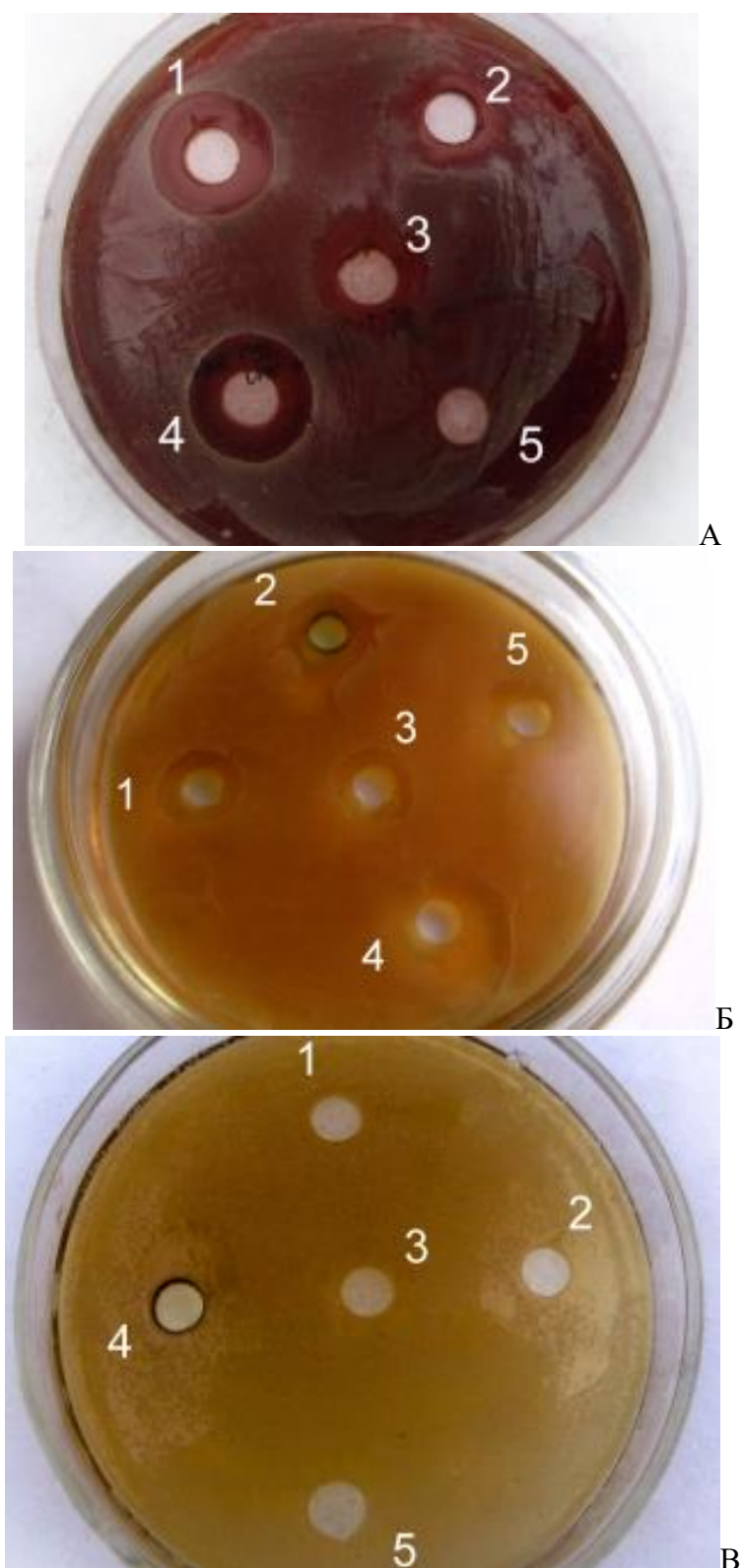


Рис. 3.4. Антибактеріальна дія досліджуваних препаратів на референтні тестові штами мікроорганізмів **А.** *Staphylococcus aureus*; **Б.** *Escherichia coli*; **В.** *Candida albicans*; **1.** Умкалор - 1,2%; **2.** Хлоргексидин - 0,05%; **3.** Етоній - 0,5% ; **4.** Мірамістин - 0,01%; **5.** Хлорофіліпт - 1%.

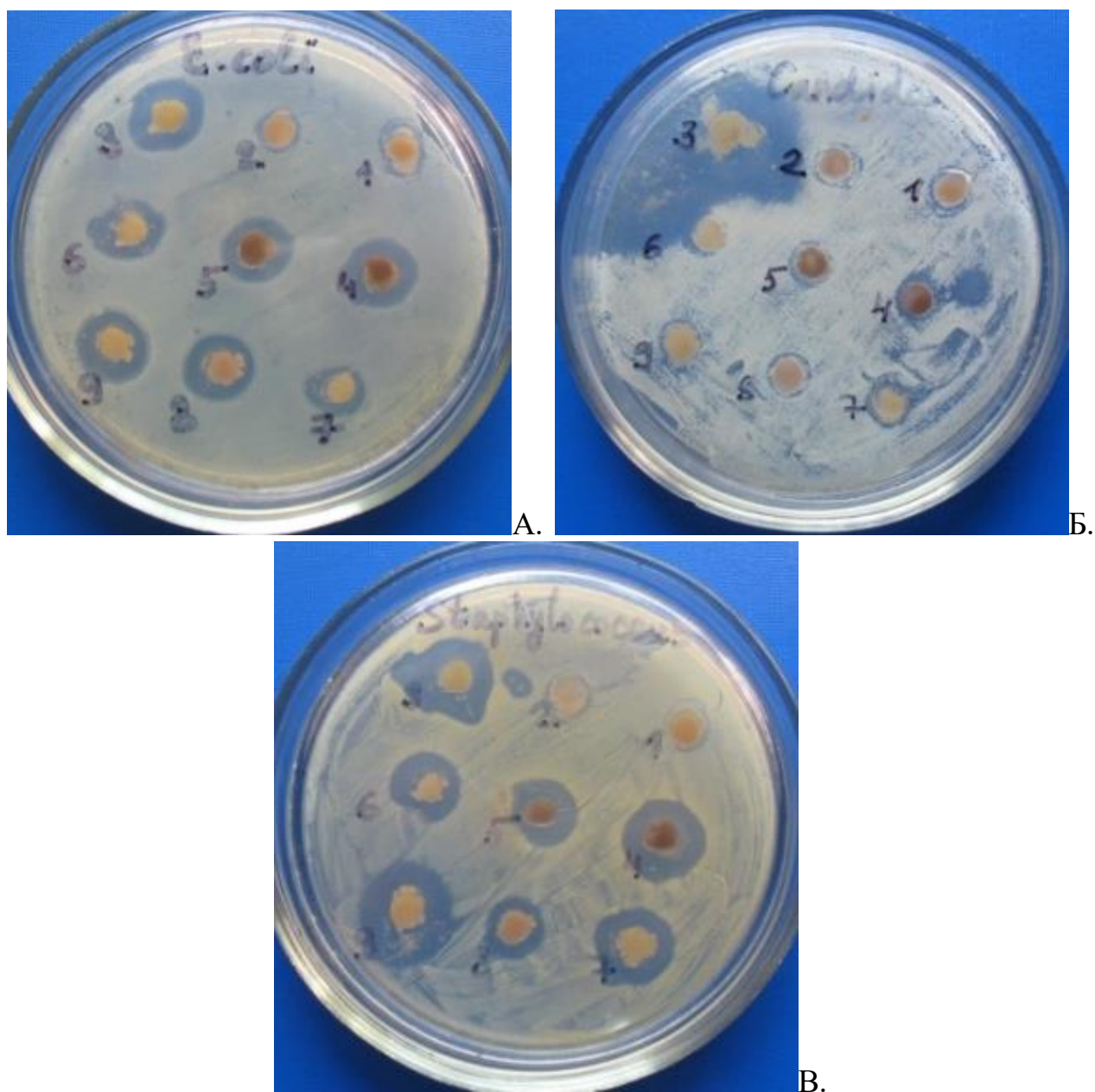


Рис. 3.5. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів [зразки №№ 1-9] на референтні тестові штами мікроорганізмів А - *E. coli*; Б – *Candida albicans*; В - *S. aureus*

Результати визначення антибактеріальної дії зразків силікагелей з наночастками золота відносно змішаної мікрофлори, взятої з корневих каналів та пародонтальних кишень, відображено в табл. 3.6 та на рис.3.6.

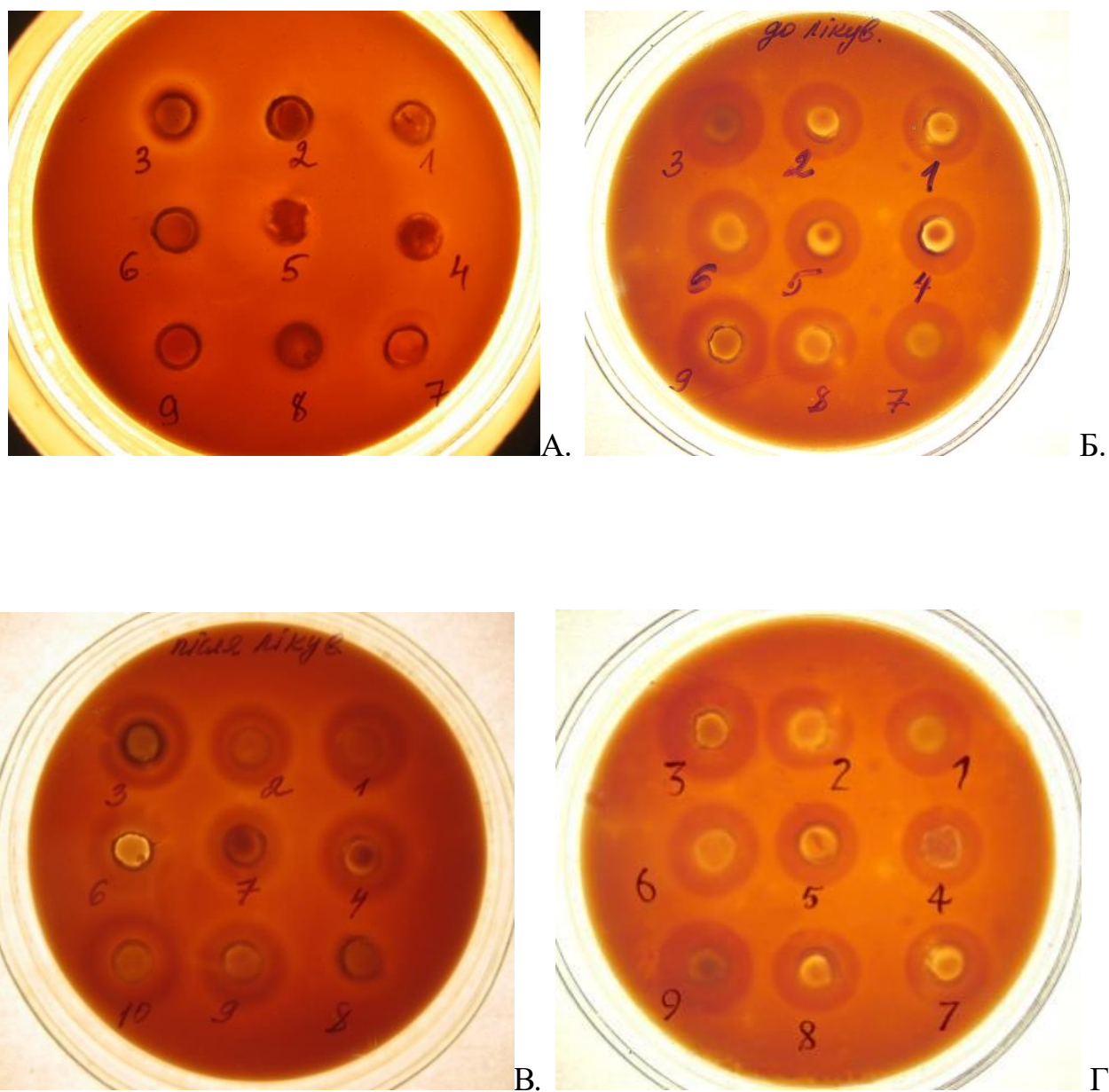


Рис. 3.6. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів (зразки №№ 1 - 9) на змішану мікрофлору корневих каналів та пародонтальних кишень

- А. Хронічний гранулюючий періодонтит (на кров'яному агарі)*
Б. Кістогранульома
В. Хронічний гранулюючий періодонтит (раніше лікований)
Г. Генералізований пародонтит

Таблиця 3.6

Антимікробна дія досліджуваних зразків силікагелей з наночастками металів на змішану мікрофлору зубних каналів хворих на хронічний періодонтит

Характер патологічного вогнища змішаної мікрофлори	Діаметр затримки зони росту, $\bar{X} \pm m$, мм	Рівень значущості відмінності, p
Хронічний гранулюючий періодонтит	$11,5 \pm 2,5$	0,38
Кістогранульома	$16,0 \pm 0,6$	
Хронічний гранулюючий періодонтит, раніше лікований	$15,6 \pm 0,7$	
Хронічний пародонтит	$15,5 \pm 0,7$	

При проведенні аналізу не виявлено статистично значущої відмінності ($p=0,38$ за критерієм Крускала-Уолліса) середніх значень діаметра зони затримки росту (таблиця 3.6) у патологічних вогнищах різного характеру.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що всі зразки силікагелей з наночастками золота в тій чи іншій мірі мають виражену антимікробну активність як на референтні тестові штами мікроорганізмів, так і на змішану мікробну флору корневих каналів та пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

На основі результатів порівняльного аналізу антимікробної активності високодисперсного силікагелю з наночастками золота з іншими препаратами з антимікробною дією, можна стверджувати, що досліджуваний препарат може стати в ряд з іншими антисептиками, які використовують при лікуванні хворих на генералізований пародонтит і є препаратом вибору.

Результати, висвітлені у цьому розділі, опубліковані в наступних наукових працях автора:

3.2. Дослідження токсико-гігієнічних властивостей композиції мукозального гелю, модифікованого наночастинками золота

3.2.1. Дослідження гострої та підгострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» при нанесенні на шкіру

Дослідження гострої та підгострої токсичності проведено на лабораторних статевозрілих тваринах (білі щури віком 2,5-3 місяців, обох статей масою 150-190 г).

Спостереження проводили під час усього експерименту, а також протягом тижня після закінчення експерименту.

Протягом усього терміну спостереження жодна піддослідна тварина не загинула, ознак інтоксикації не відмічали.

Результати досліджень гострої токсичності при нанесенні на шкіру вказали на відсутність токсичної дії мукозального гелю «Нанозолото». В усіх групах у тварин не спостерігали будь-яких відхилень від норми в поведінці і фізіологічному стані.

3.2.2. Вивчення гострої та підгострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» при введенні в шлунок

Дослідження гострої токсичності гелю проведені на 40 лабораторних мишах 3-х місячного віку масою 20 г.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що введення в шлунок гелю не викликає помітних змін у поведінці мишей. Всі тварини залишилися живі. Індекс гострої токсичності становить 1 бал.

Оцінку підгострої токсичності проводили за наступними показниками: приріст маси тварин за час експерименту, морфологічний склад крові, вміст білка і активність трансаміназ в сироватці крові, макро- і мікроскопічне дослідження внутрішніх органів.

Візуальне спостереження за щурами протягом усього експерименту не виявило відхилень від нормального фізіологічного стану. Поведінкові реакції, а також стан шерсті, шкіри, слизових оболонок залишалися нормальними. Результати, представлені в табл. 3.7, показують, що ні у самців, ні у самок, які отримували гель, не виявлено змін у прирості маси тіла, маси підшлункової залози і під'язикових слинних залоз.

Таблиця 3.7

Приріст маси тіла і деяких органів щурів під впливом мукозального гелю «Нанозолото»

Групи	Приріст маси тіла, г	Маса, мг/г		
		підшлункової залози / маса тіла	селезінки / маса тіла	підшелепних слинних залоз / маса тіла
С а м ц і				
Контроль	142,2±13,3	2,11±0,19	4,95±0,39	1,17±0,10
Дослід	159,0±12,7	2,17±0,12	5,11±0,32	1,28±0,09
С а м к и				
Контроль	120,3±10,7	2,38±0,21	4,59±0,32	1,15±0,11
Дослід	131,4±11,0	2,36±0,19	4,51±0,34	1,24±0,12

Результати наведені складу периферійної крові при введенні мукозального гелю «Нанозолото» наведені в табл. 3.8. Отримані дані свідчать, що досліджуваний препарат при тривалому введенні не здійснює негативного впливу на гематологічні показники.

Таблиця 3.8

Вплив хронічного введення гелю «Нанозолото» на гематологічні показники крові щурів

Показники	Контроль	Дослід
Гемоглобін, г/л	128,4±7,9	141,6±9,1
Еритроцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	5,0±0,2	5,2±0,2
Лейкоцитарна формула, %		
– еозинофіли	4,0	3,9
- паличкоподібні	3,3	3,2
- сегментоядерні	34,7	34,0
– лімфоцити	60,4	58,1
– моноцити	3,3	3,4

Про відсутність токсичної дії при тривалому введенні мукозального гелю «Нанозолото» оцінювали також за вмістом білка і активності деяких тканеспецифічних ферментів у сироватці крові (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Вплив гелю «Нанозолото» на вміст білка і активність ферментів у сироватці крові щурів

Показники	Контроль	Дослід
Вміст білка, г/л	69,2±6,0	76,9±5,8
Катепсини, рН 3,5 нкат/л	6,11±0,64	7,10±0,71
Лужна фосфатаза, мк-кат/л	0,72±0,06	0,80±0,08
Аланінтрансаміназа, мк-кат/л	12,0±1,0	13,4±1,5
Аспартаттрансаміназа, мк-кат/л	20,4±1,5	21,2±1,8

Дослідження нешкідливості гелю «Нанозолото» були доповнені макроскопічним оглядом внутрішніх органів тварин, проведеному відразу після забою. У піддослідних щурів не було виявлено будь-яких відхилень від норми.

Завершальним етапом стало морфологічне вивчення життєво-важливих органів щурів: печінки, нирок, селезінки, серця, легенів, шлунка. Проведені дослідження показали, що гель не має токсичної дії на тканини досліджуваних органів.

Таким чином, в результаті проведених токсикологічних досліджень можна зробити висновок, що мукозальний гель «Нанозолото» не справляє токсичного впливу при багаторазовому введенні на структуру і функцію життєво важливих органів і є практично не шкідливим.

3.2.3. Дослідження шкірно-подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото»

Зміни функціонального стану шкіри піддослідних тварин визначали за ступенем запальної реакції: еритема, набряк. Оцінку стану шкіри визначали на 10-й, 20-й і 30-й день дослідження.

В результаті досліджень виявилось, що індекс шкірно-подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото» склав 0 балів – відсутність шкірно-подразнювальної дії.

3.2.4. Дослідження подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото» на слизову оболонку порожнини рота

При визначенні можливої подразнювальної дії досліджуваного препарату на слизову оболонку порожнини рота при безпосередньому контакті.

Враховували ступінь подразнення слизової оболонки порожнини рота і слизової в ділянці з'єднання губ. За спеціальною оціночною шкалою виставляли бали (від 1 до 3). Коефіцієнт подразнення підраховували шляхом підсумовування середнього групового балу за двома показниками (слизова рота і з'єднання губ) і поділу його на кількість днів спостереження.

Отримані результати інтерпретували наступним чином:

0-0,4 – дуже слабе подразнення

0,5-1,0 – слабе подразнення

1,1-2,0 – помірне подразнення

2,1 і більше – сильне подразнення

Результати дослідження локальної подразнювальної дії гелю на слизову оболонку порожнини рота і губ наведені в табл. 3.10.

Таблиця 3.10

Оцінка локальної подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото» при втиранні в слизову оболонку порожнини рота експериментальних тварин

Групи	Коефіцієнт подразнення ротової порожнини в балах
Контроль	0,02
Дослід	0,04

Як видно з даних табл. 3.7, гель «Нанозолото» не здійснює подразнювальної дії на слизову оболонку порожнини рота (коефіцієнт подразнення не перевищує 0,4.)

3.2.5. Дослідження сенсibilізувальної дії

Сенсibilізувальну дію гелю оцінювали шляхом відтворення локальних реакцій. Дослідження проводили на білих щурах віком 2,5 місяця.

Результати оцінювали в балах:

0 балів	Відсутність запалення (відсутність сенсibilізувальної дії) (1s = 0)
1 бал	Слабко помітне запалення (слабка сенсibilізувальна дія) (1s = 1)
2 бали	Добре помітне запалення (помірна сенсibilізувальна дія) (1s = 2)
3 бали і 4 бали	Яскраво помітне запалення (виражена сенсibilізувальна дія) (1s = 3)

Результати дослідження показані в табл. 3.11

Індекс сенсibilізувальної дії для гелю «Нанозолото» склав менше одиниці, що свідчить про відсутність сенсibilізувальної дії у цього препарату.

Таблиця 3.11

Оцінка сенсibilізувальної дії мукозального гелю «Нанозолото»

Групи	Кількість тварин в групі	Індекс сенсibilізувальної дії (M±m)
Контроль	8	0,23±0,04
Дослід	8	0,29±0,05

На основі проведених експериментальних досліджень на рецептуру мукозо-адгезивного фітогелю «Нанозолото» отримано дозвіл Міністерства охорони здоров'я України (РЦ У 20.4-13903778-032/3:2013. Гігієнічний висновок № 05.03.02-07/5292 від 28.01.2014 р.). Випускають фітогель «Нанозолото» за ТУ У 20.4-13903778-032:2012 НВА «Одеська біотехнологія» у вигляді пластикових контейнерів з дозуючим пристроєм по 50 мл.

Результати, висвітлені у цьому розділі, опубліковані в таких наукових працях автора:

3.3 Оцінка терапевтичної активності композиції мукозального гелю, модифікованого наночастинками золота в умовах експериментального моделювання пародонтиту

3.3.1. Біохімічні маркери запалення і антиоксидантного захисту в тканинах порожнини рота щурів при дії ліпополісахариду і наночасточок золота і срібла

Досліди були проведені на 42 білих щурах лінії Вістар (самці, 4 місяці, середня жива маса 180 ± 10 г). Запалення у щурів викликали шляхом аплікації на слизову порожнину рота 0,5мл гелю, що містить ліпополісахарид (ЛПС) з *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал» виробництва «Медгамал», Росія) в дозі 75мкг / кг живої маси терміном на 24 години. За 2 дні до цього на слизову оболонку рота наносили гелі, що містять наночастинки Au або Ag, в кількості 0,5мл на щура.

Всі щури були розділені в 7 рівних груп по 6 голів у кожній. Група № 2, отримувала лише аплікації гелю з ЛПС, слугувала контролем групи № 1. Група № 3, отримувала гель з Лізомукоїдом (ЛМ) і ЛПС, слугувала контролем групи № 2.

Щурів умертвляли на 4-й день дослідження (3 доби аплікацій мукозальних гелів і 1 добу дії ЛПС) під тіопенталовим наркозом (20 мг / кг) шляхом тотального кровопускання з серця. Брали зразки ясен і слизової щоки, в

гомогенаті яких визначали активність біохімічних маркерів запалення - активність еластази [132] і вміст малонового діальдегіду (МДА) [132], а також активність антиоксидантного ферменту каталази [134]. За співвідношенням активності каталази і вмісту МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ [132].

У табл. 3.12 наведені результати визначення в яснах рівня біохімічних маркерів запалення. З цих даних видно, що ЛПС викликає достовірне збільшення рівня обох маркерів запалення, яке знижується після впливу гелю, що містить Лізомукоїд. Включення до складу гелю наночастинок золота або срібла не вплинуло істотним чином на рівень маркерів запалення в яснах, можливо, через короткочасність дії (всього 3 дні) або недостатньої дози препаратів.

Таблиця 3.12

Вплив гелів з наночастинками золота або срібла на рівень біохімічних маркерів запалення в яснах щурів після впливу ЛПС (у всіх групах n = 6)

Групи	Еластаза, мк-кат/кг	МДА, ммоль/кг
1. Норма	41 ± 6	13,4 ± 0,8
2. ЛПС – контроль 1	62 ± 2 p<0,01	20,7 ± 2,8 p<0,05
3. ЛПС+Лізомукоїд (ЛМ) – контроль 2	57 ± 2 p<0,05 p ₁ >0,05	14,7 ± 1,2 p>0,3 p ₁ <0,05
4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г)	57 ± 2 p<0,05 p ₁ >0,05 p ₂ =1	17,5 ± 1,8 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,2
5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г)	60 ± 3 p<0,05 p ₁ >0,5 p ₂ >0,3	15,0 ± 1,4 p>0,3 p ₁ <0,05 p ₂ >0,5
6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	59 ± 3 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,3	16,3 ± 1,4 p>0,05 p ₁ >0,05 p ₂ >0,3
7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	59 ± 2 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,3	13,8 ± 1,0 p>0,5 p ₁ <0,05 p ₂ >0,3

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з гр. № 1; p₁ – показник достовірності відмінностей з гр. № 2; p₂ – показник достовірності відмінностей з гр. № 3.

Аналогічні показники, але тільки для слизової щоби, наведені в табл. 3.13, з якої видно, що ЛПС достовірно збільшує і активність еластази, і концентрацію МДА. Аплікації гелю, що містить Лізомукоїд, знижують малою мірою рівень цих маркерів, тоді як включення до складу гелів кремнезему з наночастинками золота або срібла помітно підсилює протизапальну дію Лізомукоїда, особливо щодо еластази.

Таблиця 3.13

Вплив гелів з наночастинками золота або срібла на рівень біохімічних маркерів запалення в слизовій щоби щурів після впливу ЛПС

(в усіх групах $n = 6$)

Групи	Еластаза, мк-кат/кг	МДА, ммоль/кг
1. Норма	51 ± 3	$13,1 \pm 1,2$
2. ЛПС – контроль 1	69 ± 2 $p < 0,01$	$21,3 \pm 1,9$ $p < 0,05$
3. ЛПС+Лізомукоїд (ЛМ) – контроль 2	66 ± 11 $p > 0,05$ $p_1 > 0,5$	$19,7 \pm 1,6$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$
4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г)	61 ± 4 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,3$	$19,0 \pm 2,1$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$ $p_2 > 0,5$
5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г)	62 ± 2 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,3$	$18,0 \pm 1,7$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$ $p_2 > 0,5$
6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	60 ± 6 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,3$	$19,4 \pm 1,4$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$ $p_2 > 0,5$
7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	57 ± 6 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	$17,6 \pm 1,4$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,3$

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з гр. № 1; p_1 – показник достовірності відмінностей з гр. № 2; p_2 – показник достовірності відмінностей з гр. № 3.

У табл. 3.14 наведені результати визначення активності антиоксидантного ферменту каталази в тканинах порожнини рота щурів після впливу ЛПС і гелів з наночастинками Au або Ag.

Таблиця 3.14

Вплив гелів з наночастинками золота і срібла на активність каталази (мккат / кг) в яснах і слизовій щоки щурів після впливу ЛПС (в усіх групах n = 6)

Групи	Ясна	Щока
1. Норма	7,85 ± 0,42	6,97 ± 0,47
2. ЛПС – контроль 1	6,03 ± 0,22 p<0,01	5,22 ± 0,52 p<0,05
3. ЛПС+Лізомукоїд (ЛМ) – контроль 2	6,14 ± 0,87 p<0,05 p ₁ >0,5	6,00 ± 0,37 p>0,05 p ₁ >0,05
4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г)	7,10 ± 0,53 p>0,1 p ₁ <0,05 p ₂ >0,3	6,45 ± 0,29 p>0,1 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05
5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г)	7,83 ± 0,40 p>0,8 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01	6,62 ± 0,33 p>0,3 p ₁ <0,05 p ₂ >0,2
6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	7,84 ± 0,71 p>0,9 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01	6,96 ± 0,32 p>0,9 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	8,58 ± 0,14 p>0,05 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01	6,92 ± 0,44 p>0,8 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з гр. № 1; p₁ – показник достовірності відмінностей з гр. № 2; p₂ – показник достовірності відмінностей з гр. № 3.

При дії ЛПС активність каталази, на відміну від біохімічних маркерів запалення, знижується, причому достовірно і в яснах, і в слизовій щоки. Аплікації гелю з Лізомукоїдом декілька збільшують активність каталази, проте в обох випадках p> 0,05.

Включення до складу гелю з Лізомукоїдом наночастинок Au або Ag, адсорбованих на кремнеземі, значно підвищує активність каталази в обох тканинах, причому у всіх випадках $p < 0,05$. Найбільш сильну активуючу дію на каталазу надав гель, що містить додатково до Лізомукоїду наночастинок срібла.

На підставі результатів визначення активності каталази і вмісту МДА були розраховані значення індексу АПІ, які приведені на малюнку 3.7. Із цих даних видно, що індекс АПІ, що відображає баланс антиоксидантних і прооксидантних систем тканини, значно (більш, ніж в 2 рази) знижується при впливі ЛПС.

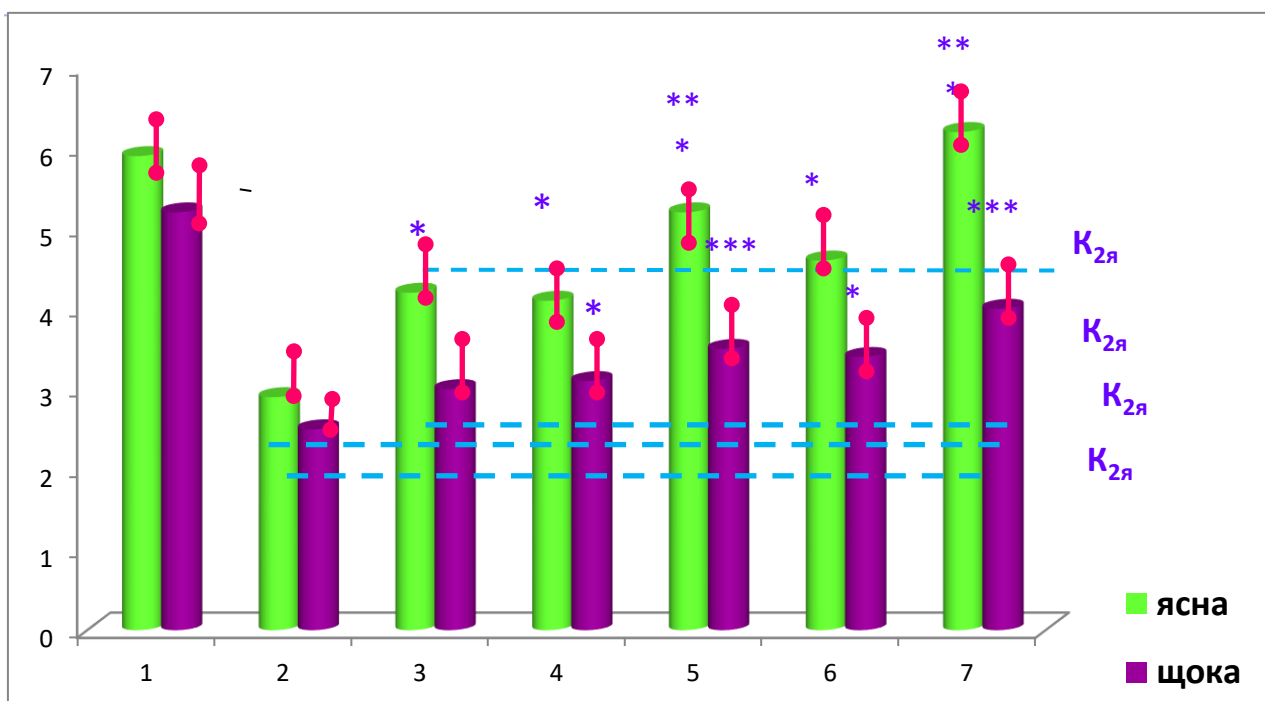


Рис. 3.7. Вплив гелів з Au і Ag на індекс АПІ ясен і слизової щоки щурів після впливу ЛПС (1-7 - групи щурів) (* - $p < 0,05$ порівняно з контролем № 1 (гр. № 2), ** - $p < 0,05$ порівняно з контролем № 2 (гр. № 3)

Аплікації гелю, що містить Лізомукоїд, підвищують індекс АПІ, а включення до складу гелю препаратів з наночастками Au або Ag значно посилюють антиоксидантну дію Лізомукоїда. Найбільш сильний активуючий ефект надав препарат, що містить наночастинок Ag розміром 10 мкм (гр. № 7).

Таким чином, проведені нами дослідження підтвердили протизапальні та антиоксидантні властивості вже відомого препарату Лізомукоїд, які можна

значно підсилити за допомогою гелів, що містять наночастинки золота або срібла. Подальші дослідження повинні визначити оптимальні ефективні дози препаратів наночастинок золота та срібла і можливі механізми їх лікувально-профілактичної дії при стоматологічних захворюваннях.

3.3.2 Вплив оральних аплікацій силікагелю, що містить наночастинки золота або срібла, на ступінь дисбіозу ясен щурів після дії ліпополісахариду

В експерименті було використано 42 білих щурів лінії Вістар (4-ри місячні самці, середньою масою 180 ± 10 г). Дисбіоз у тварин викликали шляхом аплікації на слизову порожнину рота 0,5мл гелю, що містить ЛПС з *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал» виробництва «Медгамал», Росія) в дозі 75мкг / кг маси на строк 24 години.

Всі щури були розподілені на 7 рівних груп по 6 голів у кожній. Група 2, отримувала лише аплікації гелю з ЛПС, слугувала контролем 1. Група 3, отримувала за два дні до ЛПС гель з Лізомукоїдом, слугувала контролем 2. Решті чотирьом групам щурів за 2 дні до ЛПС на слизову порожнину рота наносили аплікації гелів, що містять силікагелі з наночастинками Au або Ag, в кількості 0,5мл на пацюка щодня протягом 3 днів.

Щурів умертвляли на 4-й день досвіду (3 доби аплікацій мукозальних гелів і 1 добу дії ЛПС) під тіопенталовим наркозом (20 мг / кг) шляхом тотального кровопускання з серця. Висікали ясна і слизову щоки, в гомогенаті яких визначали ступінь дисбіозу за А. П. Левицьким [134] за співвідношенням відносних активностей уреазы (маркер мікробного обсіменіння) [134] і лізоциму (показник неспецифічного імунітету) [130].

У табл. 3.15 наведені результати визначення активності ферментів у слизовій щоки щурів після впливу ЛПС і гелів з наночастинками золота та срібла. Як видно з цих даних, ЛПС більш ніж в 3,5 рази збільшує в слизовій

щоби активність уреаз, що свідчить про зростання мікробного обсіменіння тканини. Під впливом гелю з Лізомукоїдом активність уреаз знижується, однак не досягає норми. Аналогічну дію надають і гелі, що містять наночастинки золота і срібла.

Таблиця 3.15

Вплив гелів з наночастинками золота і срібла на активність уреаз і лізоциму в слизовій щоби щурів після впливу ЛПС

Групи	Активність уреаз, мк-кат/кг	Активність лізоцима, ед/кг
1. Норма	0,43 ± 0,12	310 ± 34
2. ЛПС (контроль 1)	1,41 ± 0,05 p < 0,001	196 ± 20 p < 0,01
3. ЛПС + Лізомукоїд (контроль 2)	1,21 ± 0,05 p < 0,001 p ₁ < 0,05	217 ± 31 p > 0,05 p ₁ > 0,3
4. ЛПС + Лізомукоїд +Au (5 нм, 500 мкг/г)	1,22 ± 0,06 p < 0,001 p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,9	248 ± 22 p > 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,3
5. ЛПС+ Лізомукоїд +Au (5 мкм, 400 мкг/г)	1,35 ± 0,12 p < 0,001 p ₁ > 0,3 p ₂ > 0,2	207 ± 21 p < 0,05 p ₁ > 0,4 p ₂ > 0,5
6. ЛПС+ Лізомукоїд +Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	1,09 ± 0,12 p < 0,01 p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,3	206 ± 25 p < 0,05 p ₁ > 0,4 p ₂ > 0,5
7. ЛПС+ Лізомукоїд +Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	1,09 ± 0,11 p < 0,01 p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,3	206 ± 25 p < 0,05 p ₁ > 0,4 p ₂ > 0,5

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з групою. № 1; p₁ – показник достовірності відмінностей з гр. № 2; p₂ – показник достовірності відмінностей з групою № 3.

На відміну від уреаз активність лізоциму в слизовій щоби експериментальних тварин після апікацій ЛПС істотно знижується, а під впливом апікацій гелів, що містять Лізомукоїд і наночастинки золота або срібла, підвищується, причому найбільшою мірою після нанесення гелю з наночастинками золота розміром 5нм.

На рис. 3.8 приведені результати визначення ступеня дисбіозу у слизовій щоки щурів. З цих даних видно, що ЛПС збільшує ступінь дисбіозу більш, ніж у 5 разів. Попередні аплікації гелів з Лізомукоїдом і наночастинками Au або Ag знижують ступінь дисбіозу, причому найбільш це виражено після нанесення гелю з наночастинками золота розміром 5нм.

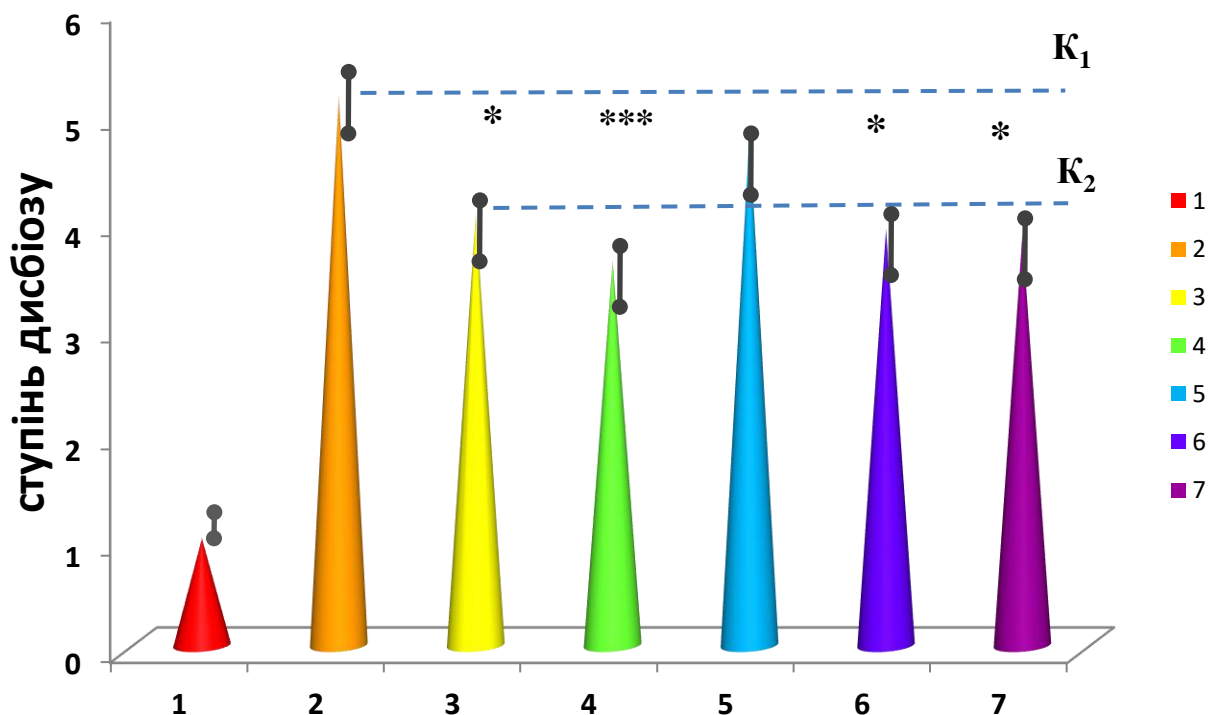


Рис. 3.8. Вплив гелів з Au і Ag на ступінь дисбіозу слизової щоки щурів після впливу ЛПС (1. Норма; 2. ЛПС – контроль 1; 3. ЛПС+Лизомукоїд (ЛМ) – контроль 2; 4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г); 5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г); 6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г); 7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г))

У табл. 3.16 наведені результати визначення в яснах активності уреазі і лізоциму. Як видно з цих даних, аплікації на ясна гелю з ЛПС викликають більш, ніж 3-кратне збільшення активності уреазі, що свідчить про значне зростання мікробного обсіменіння ясен. Попередні аплікації на ясна гелю з Лізомукоїдом достовірно знижують активність уреазі, яка ще більше знижується при поєднанні Лізомукоїда з силикагелями, що містять наночастинки золота або срібла, причому найбільш ефективним виявилось поєднання з силикагелем, що містить Au (5мкм, 400мкг / г).

Таблиця 3.16

Вплив гелів з наночастинками золота і срібла на активність урези і лізоциму в яснах щурів після впливу ЛПС

Групи	Уреза, мк- кат/кг	Лізоцим, ед/кг
1. Норма	0,72 ± 0,10	310 ± 48
2. ЛПС – контроль 1	2,35 ± 0,13 p<0,001	209 ± 20 p<0,05
3. ЛПС+Лізоцимоїд (ЛМ) – контроль 2	1,54 ± 0,08 p<0,001 p ₁ <0,01	227 ± 37 p>0,05 p ₁ >0,3
4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г)	1,45 ± 0,10 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,3	279 ± 17 p>0,3 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05
5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г)	1,29 ± 0,08 p<0,01 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	248 ± 28 p>0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,3
6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	1,35 ± 0,11 p<0,01 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	233 ± 26 p>0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,5
7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	1,38 ± 0,09 p<0,01 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	248 ± 22 p>0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,4

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з групою. № 1; p₁ – показник достовірності відмінностей з гр. № 2; p₂ – показник достовірності відмінностей з групою № 3.

При дії ЛПС активність лізоциму, навпаки, знижується, що свідчить про ослаблення неспецифічного імунітету [182]. Аплікації гелю з ЛМ у кілька разів підвищують активність лізоциму, а поєднання ЛМ з силікагелями, що містять Au або Ag, підвищує активність ще більше, особливо, силікагель, що містить наночастинки золота (5нм, 500мкг / г).

Розраховані за цими даними показники ступеня дисбіозу тканини ясен наведені на малюнку 3.9. Із цих даних видно, що при дії ЛПС ступінь дисбіозу зростає майже в 5 разів як за рахунок зростання мікробної обміненія, так і за рахунок істотного зниження активності лізоциму.

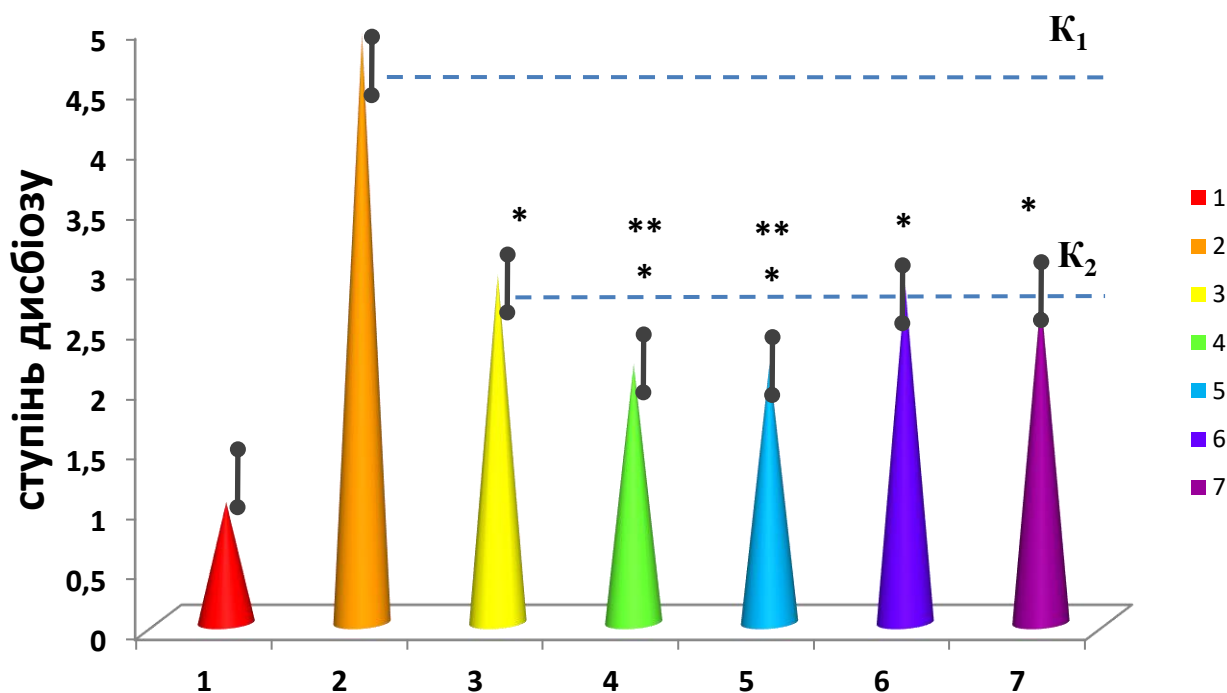


Рис. 3.9. Вплив гелів з Au і Ag на ступінь дисбіозу в яснах щурів після впливу ЛПС (1. Норма; 2. ЛПС – контроль 1; 3. ЛПС+Лизомукоид (ЛМ) – Контроль 2; 4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г); 5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г); 6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г); 7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г))

Аплікації гелю з ЛМ дійсно знижують цей показник, але ще більше його знижують аплікації гелів, що містять додатково до ЛМ наночастинки золота або срібла, причому більш ефективними виявилися гелі з наночастинками золота.

Таким чином, проведені нами дослідження підтвердили антидисбіотичну дію препарату Лізоμουкоїда [130], яка істотно посилюється поєднанням останнього з наночастинками Au і Ag.

Враховуючи, що оральний дисбіоз є патогенетичною основою розвитку дистрофічно-запальних захворювань пародонта [136], можна вважати, що застосування в якості антидисбіотичних засобів препаратів, що містять

наночастинки золота або срібла, може виявитися досить ефективним у профілактиці та лікуванні захворювань пародонта.

3.3.3. Експериментальне обґрунтування застосування препаратів нанозолота для лікування захворювань пародонта

Метою даної частини досліджень стало вивчення пародонтопротекторної дії гелю, що містить наночастинки золота, при моделюванні протамінового пародонтиту.

Вибір нанозолота зроблений з тієї причини, що саме наночастинки золота найбільшою мірою відновлювали активність лізоциму, знижену при дії ЛПС [31].

Що ж стосується протамінової моделі пародонтиту, то вона обрана в зв'язку з тим, що протамін як інгібітор гепарину активує гіалуронідазу, яка підвищує проникність гістогематичних бар'єрів і є протизапальним фактором [205].

У роботі був використаний мукозальний 3%-ний гель КМЦ (карбоксиметилцелюлоза, натрієва сіль), що містить 5% силікагелю з включенням 500мкг/г наночастинок золота розміром 5нм [31,219]. Для порівняння використовували також мукозальний гель КМЦ без сорбенту («порожній» гель) і мукозальний гель, що містить 5% силікагелю (препарат порівняння).

Протаміновий пародонтит відтворювали у щурів шляхом триденного нанесення на ясна по 0,5мл гелю КМЦ, що містить 10% розчину протаміну сульфату в концентрації 10мг/мл [137].

Експерименти були проведені на 35 білих щурах лінії Вістар (5 місячні самки, середня жива маса 230 ± 15 г). Всі щурі були розподілені в 5 рівних груп: перша - норма, друга - пародонтит (без лікування), третя - пародонтит + «порожній» гель, починаючи з 5 дня дослідження протягом 5 днів, четверта -

пародонтит + гель, що містить 5% силікагелю, і п'ята - пародонтит + гель з наночастинками золота.

Усі лікувальні гелі наносили на ясна в кількості 0,5мл один раз в день після їжі протягом 5 днів.

Евтаназію тварин здійснювали на 13-й день від початку дослідження під тіопенталовим наркозом (20мг/кг) шляхом тотального кровопускання з серця. Висікали ясна і альвеолярний відросток нижньої щелепи. Тканини до дослідження зберігали при -30°C .

У гомогенатах ясен (20мг/мл 0,05 М трис-НСІ буфера, рН 7,5) визначали активність уреазы [134], лізоциму [134], еластази [132], каталази [134], вміст малонового диальдегіду (МДА) [132] і концентрацію гіалуронової кислоти [205]. За співвідношенням активності каталази і вмісту МДА розраховували антиоксидантних-прооксидантний індекс АПІ [132], а за співвідношенням відносних активностей уреазы і лізоциму розраховували ступінь дисбіозу за А.П.Левицьким [134].

У гомогенаті кісткової тканини альвеолярного відростка визначали активність лужної (ЛФ) і кислої (КФ) фосфатази [132]. За співвідношенням ЛФ / КФ розраховували індекс мінералізуючої здатності кісткової тканини пародонта (ІМ) [135].

Ступінь атрофії альвеолярного відростка визначали за методом А.В.Миколайової [169].

У табл. 3.17 приведені результати визначення в яснах активності уреазы (біохімічний маркер мікробного обмінення) і лізоциму (показник неспецифічного імунітету). Як видно з цих даних, при моделюванні пародонтиту активність уреазы зростає в 1,7 рази (хоча $p > 0,05$), що свідчить про збільшення мікробного обмінення ясен. Аплікації гелю з нанозолотом знижують цей показник в 1,5 рази.

Навпаки, активність лізоциму в яснах щурів з пародонтитом знижується в 1,9 рази, тоді як у щурів, які отримували аплікації гелів з силікагелем або з нанозолотом, активність лізоциму знижувалась лише в 1,2 рази.

Розрахована за цими показниками ступінь дисбіозу ясен приведена на рис. 3.10 з якого видно, що цей показник у щурів з пародонтитом зростає більш ніж в 3 рази і достовірно знижується після аплікацій гелів із силікагелем і, особливо, з нанозолотом. В останньому випадку ступінь дисбіозу ясен знижується майже до норми.

Таблиця 3.17

Вплив гелю з нанозолотом на активність уреазі і лізоциму в яснах щурів з експериментальним пародонтитом

(в усіх групах $n = 7$)

№№ гр.	Групи	Уреаза, мк-кат/кг	Лізоцим, ед/кг
1.	Норма	$0,38 \pm 0,10$	252 ± 39
2.	Пародонтит	$0,63 \pm 0,10$ $p > 0,05$	132 ± 45 $p > 0,05$
3.	Пародонтит + гель «пустий»	$0,63 \pm 0,12$ $p > 0,05$	149 ± 55 $p > 0,05$
4.	Пародонтит + гель з сорбентом	$0,62 \pm 0,10$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,8$	202 ± 47 $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$
5.	Пародонтит + гель з нанозолотом	$0,42 \pm 0,12$ $p > 0,5$ $p_1 > 0,05$	202 ± 57 $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з гр. № 1; p_1 – показник достовірності відмінностей з гр. № 3.

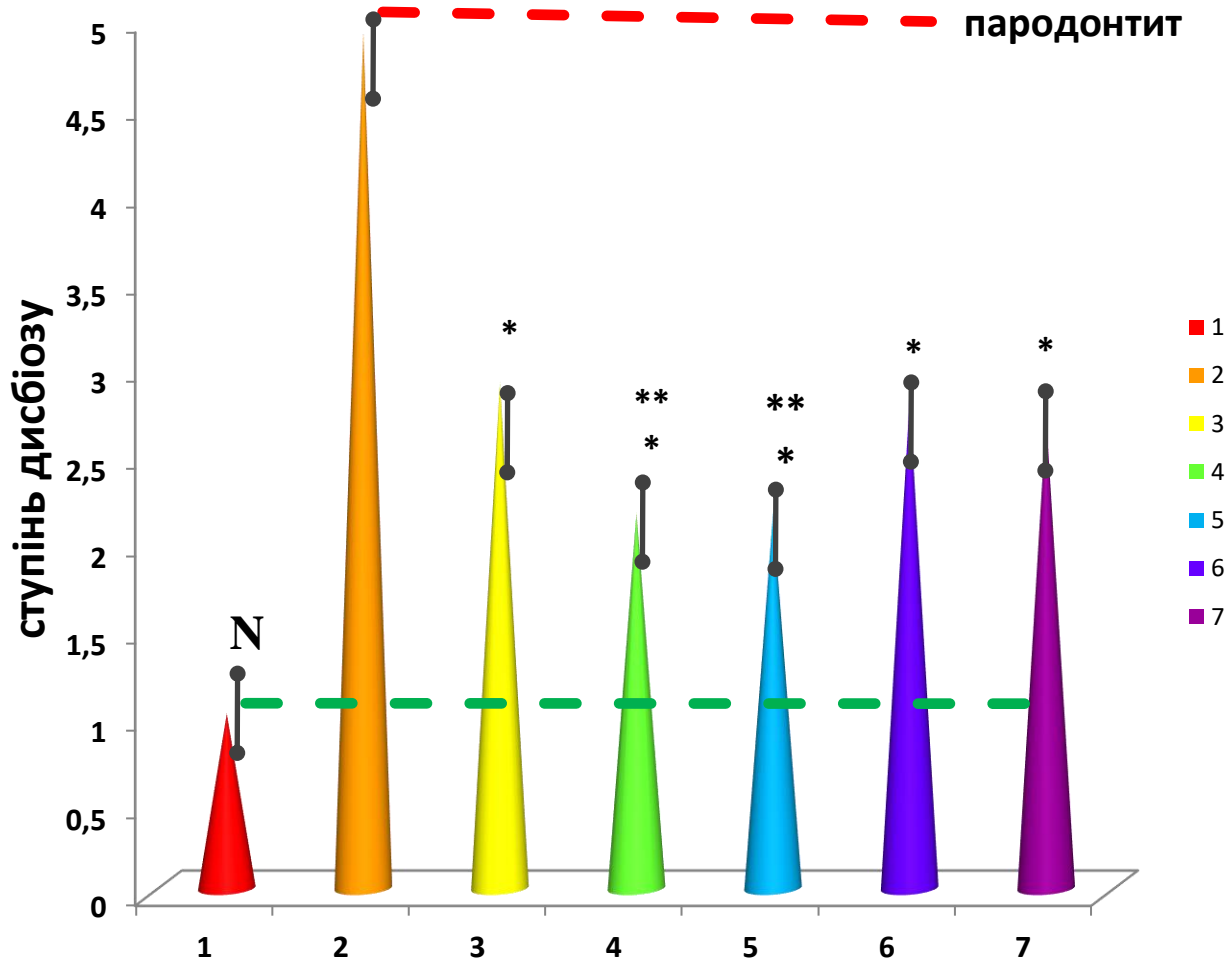


Рис. 3.10. Вплив гелю з нанозолотом на ступінь дисбіозу ясен щурів з експериментальним пародонтитом (1 - норма, 2 - пародонтит (П), 3 - П + гель «пустий», 4 - П + гель з сорбентом, 5 - П + гель з Нанозолото) *– $p < 0,05$ порівняно з гр. № 1; **– $p < 0,05$ порівняно з гр. № 3

У табл. 3.18 приведені результати визначення рівня маркерів запалення - активність еластази і вміст МДА. Як видно з цих даних, при пародонтиті збільшується рівень обох маркерів, що свідчить про початок запальних процесів в яснах (гінгівіт). Аплікації гелю з сорбентом і гелю з нанозолото знижують рівень еластази (проте $p > 0,05$).

Таблиця 3.18

Вплив гелю з нанозолотом на рівень маркерів запалення в яснах щурів з експериментальним пародонтитом

(в усіх групах n = 7)

№№ гр.	Групи	Еластаза, мк-кат/кг	МДА, мкмоль/кг
1.	Норма	31 ± 4	13,0 ± 1,3
2.	Пародонтит	38 ± 3 p>0,05	16,3 ± 0,6 p<0,05
3.	Пародонтит + гель «пустий»	37 ± 3 p>0,05	15,6 ± 1,0 p>0,05
4.	Пародонтит + гель с сорбентом	33 ± 2 p>0,3 p ₁ >0,1	15,7 ± 1,4 p>0,05 p ₁ >0,9
5.	Пародонтит + гель с нанозолотом	30 ± 4 p>0,8 p ₁ >0,3	15,6 ± 1,6 p>0,05 p ₁ >0,9

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з гр. № 1; p₁ – показник достовірності відмінностей з гр. № 3.

У табл. 3.19 приведені результати визначення активності каталази та індексу АПІ в яснах щурів з експериментальним пародонтитом. Хоча активність каталази при пародонтиті знижується, а під впливом мукозальних гелів дещо збільшується, однак через значні розходження даних p в усіх випадках більше 0,05.

Таблиця 3.19

Вплив гелю з нанозолотом на активність каталази та індекс АПІ в яснах щурів з експериментальним пародонтитом

(у всіх групах n = 7)

№№ гр.	Групи	Каталаза, мкат/кг	АПІ
1.	Норма	7,33 ± 0,92	5,64 ± 0,52
2.	Пародонтит	6,36 ± 0,51 p>0,3	3,90 ± 0,31 p<0,05
3.	Пародонтит + гель «пустий»	6,70 ± 0,30 p>0,1	4,29 ± 0,30 p<0,05
4.	Пародонтит + гель з сорбентом	6,82 ± 0,23 p>0,1 p ₁ >0,3	4,34 ± 0,31 p<0,05 p ₁ >0,5
5.	Пародонтит + гель з нанозолотом	6,85 ± 0,37 p>0,05 p ₁ >0,03	4,39 ± 0,34 p<0,05 p ₁ >0,5

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з гр. № 1; p₁ – показник достовірності відмінностей з гр. № 3.

На відміну від активності каталази, індекс АПІ при пародонтиті знижується достовірно, проте аплікації гелів з силікагелем або з нанозолотом практично його не змінюють.

На малюнку 3.11 приведені результати визначення вмісту гіалуронової кислоти в яснах щурів з пародонтитом. Як відомо, гіалуронова кислота - це міжклітинний «цемент», який знижує проникність гістогематичних бар'єрів і тим самим надає протизапальну дію [205]. При моделюванні пародонтиту вміст гіалуронової кислоти в яснах істотно знижується і лише після аплікацій гелю з нанозолотом достовірно зростає, хоча і не до норми.

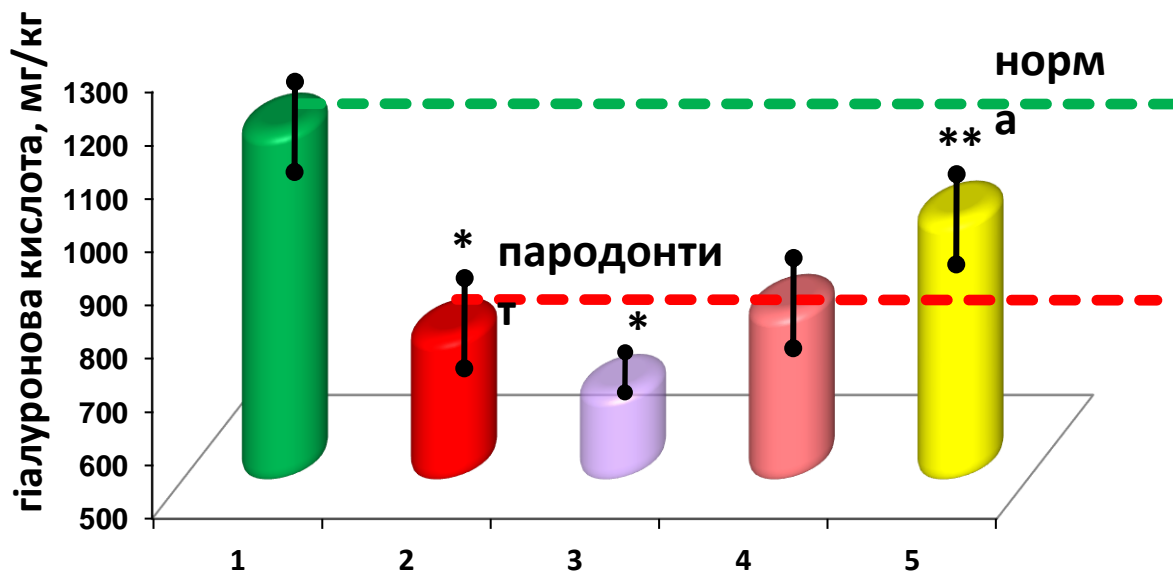


Рис. 3.11 Вплив гелю з нанозолотом на вміст гіалуронової кислоти в яснах щурів з експериментальним пародонтитом (1-5 – див. рис. 5.4)

На рис. 3.12 показано, як змінюється ступінь атрофії альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів з експериментальним пародонтитом. Видно, що при пародонтиті достовірно зростає ступінь атрофії, а під впливом аплікації гелів з силікагелем або з нанозолотом ступінь атрофії кісткової тканини достовірно знижується, причому після аплікацій гелю з нанозолотом - до норми.

У таблиці 3.20 представлені результати визначення в кістковій тканині пародонта активності фосфатаз та індексу мінералізації (ІМ). Видно, що достовірно знижується лише індекс ІМ, причому аплікації гелів навіть кілька погіршують стан мінералізації. Однак, якщо індекс мінералізації порівнювати з аналогічним показником 3-ї групи (група порівняння), то гель з нанозолотом достовірно збільшує мінералізуючу здатність кісткової тканини пародонта, причому, головним чином, за рахунок зростання активності ЛФ, яка є маркером остеобластів [135].

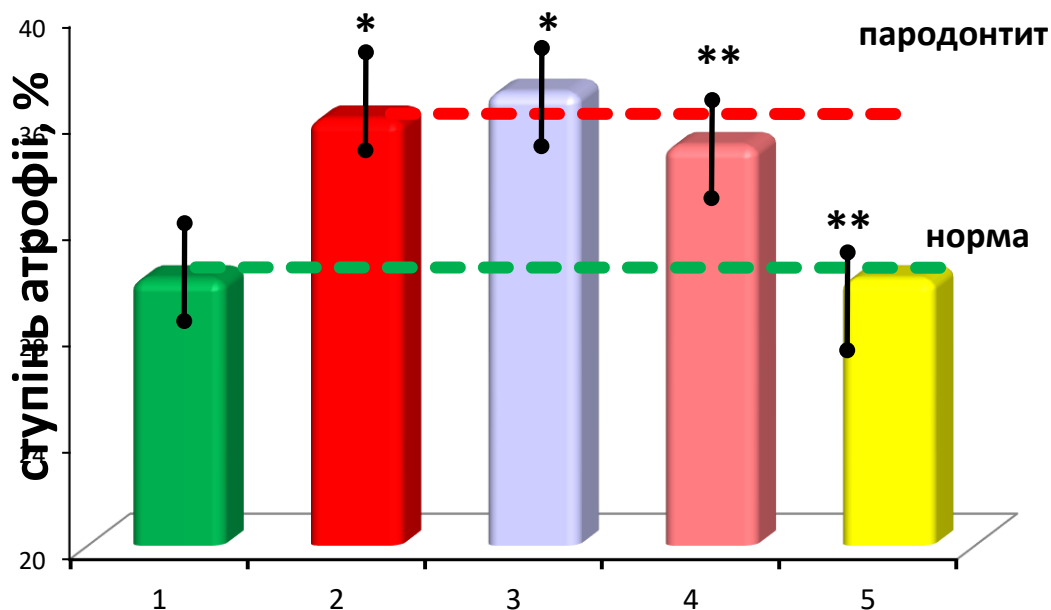


Рис. 3.12. Вплив гелю з наночастинками золота на ступінь атрофії альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів із експериментальним пародонтитом (1-5 - див. рис. 5.4)

Таблиця 3.20

Вплив гелю з нанозолотом на активність фосфатаз та індекс мінералізації кісткової тканини пародонта щурів з експериментальним пародонтитом (у всіх групах $n = 7$)

№№ гр.	Групи	ЛФ, нкат/кг	КФ, нкат/кг	ІМ
1.	Норма	$120,9 \pm 14,6$	$1,99 \pm 0,22$	$60,7 \pm 1,9$
2.	Пародонтит	$123,0 \pm 9,4$ $p > 0,6$	$2,16 \pm 0,05$ $p > 0,3$	$56,9 \pm 1,7$ $p > 0,3$
3.	Пародонтит + гель «пустий»	$88,9 \pm 7,0$ $p < 0,05$	$2,13 \pm 0,18$ $p > 0,3$	$41,7 \pm 1,4$ $p < 0,05$
4.	Пародонтит + гель з сорбентом	$97,0 \pm 7,2$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,2$	$2,130 \pm 0,12$ $p > 0,3$ $p_1 = 1$	$45,5 \pm 1,5$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
5.	Пародонтит + гель з Нанозолотом	$108,9 \pm 10,1$ $p > 0,3$ $p_1 > 0,05$	$2,15 \pm 0,12$ $p > 0,3$ $p_1 > 0,7$	$50,6 \pm 3,1$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітки: p – показник достовірності відмінностей з гр. № 1; p_1 – показник достовірності відмінностей з гр. № 3.

Таким чином, проведені нами дослідження показали, що в умовах патогенної дії ліпополісахариду аплікації мукозального гелю з наночастинками золота або срібла суттєво підвищують антидисбіотичну, протизапальну і антиоксидантну дію препарату лізомукоїд по відношенню до тканин пародонту і слизової оболонки порожнини рота.

В умовах протамінового пародонтиту застосування мукозального гелю «Нанозолото» знижує ступінь мікробного обсіменіння, підвищує рівень неспецифічного імунітету, суттєво знижує ступінь атрофії альвеолярного відростка, збільшує вміст в яснах гіалуронової кислоти.

ВИСНОВКИ

Введення ліпополісахариду викликає достовірне збільшення рівня обох маркерів запалення: еластази до 38 ± 3 мк-кат/кг та МДА до $16,3 \pm 0,6$ мкмоль/кг. Аплікації гелю з наночастинками золота та срібла певною мірою зменшує рівень цих показників, особливо еластази до 30 ± 4 мк-кат/кг, що свідчить про протизапальну дію цього препарату.

При дії ЛПС активність каталази знижується до $6,36 \pm 0,51$ мкат/кг, аплікації гелю з наночастинками золота та срібла значно збільшують активність каталази до $6,85 \pm 0,37$ мкат/кг.

На підставі результатів визначення активності каталази і вмісту МДА були розраховані значення індексу АПІ. Розрахований індекс АПІ зменшується при наявності запалення в пародонті до $3,90 \pm 0,31$. Аплікації гелю з наночастинками Au або Ag значно підвищують індекс АПІ до $4,39 \pm 0,34$. Таким чином, проведені дослідження показали протизапальні та антиоксидантні властивості мукозального гелю, що містить наночастинки золота або срібла. Моделювання експериментального пародонтиту підвищує активність уреаз до $0,63 \pm 0,10$ мк-кат/кг і знижує активність лізоциму до 132 ± 45 од/кг. Застосування мукозального гелю з частинками золота і срібла знижує

активність уреазу до 132 ± 45 та підвищує активність лізоциму до 202 ± 57 од/кг, що свідчить про зменшення ступеня дисбіозу.

Аплікації мукозального гелю з частинками золота і срібла підвищують активність лужної (ЛФ) і кислої (КФ) фосфатази відповідно до $108,9 \pm 10,1$ та $2,15 \pm 0,12$ нкат/кг та індекс мінералізації кісткової тканини щурів до $50,6 \pm 3,1$, зменшують підвищений при запаленні рівень еластази до 38 ± 3 мк-кат/кг та МДА до $16,3 \pm 0,6$ мкмоль/кг, що свідчить про протизапальну дію препарату.

Таким чином в умовах протамінового пародонтиту застосування мукозального гелю «Нанозолото» знижує ступінь мікробного обсіменіння, підвищує рівень неспецифічного імунітету, суттєво знижує ступінь атрофії альвеолярного відростка, збільшує вміст в яснах гіалуронової кислоти.

Проведені нами дослідження показали, що в умовах патогенної дії ліпополісахариду аплікації мукозального гелю з наночастинками золота або срібла суттєво підвищують антидисбіотичну, протизапальну і антиоксидантну дію препарату лізомукоїду по відношенню до тканин пародонта і слизової оболонки порожнини рота

Результати, висвітлені у цьому розділі, опубліковані в наступних наукових працях автора:

1. Борисенко А. В. Мікробіологічне обґрунтування застосування наночасточок золота та срібла для лікування періодонтитів / А. В. Борисенко, О. Б. Ткач, О. М. Волощук / Науковий вісник Національного медичного університету ім.О.О.Богомольця – 2012 - №2. - С. 21 – 25.
2. Борисенко А. В. Вивчення впливу препаратів наночасточок золота на умовно патогенну мікрофлору кореневого каналу. / А. В. Борисенко, О. Б. Ткач, О. М. Волощук / Современная стоматология – 2013. - №1. - С. 11 – 14.
3. Борисенко А. В. Влияние оральных аппликаций силикагеля, содержащего наночастицы золота или серебра, на степень дисбиоза десны крыс после воздействия липополисахарида / А. В. Борисенко, А. П. Левицкий, О. Б. Ткач // Вісник стоматології. – 2013 - №3. - С. 2-4.

4. Левицький А. П. Биохимические маркеры воспаления и антиоксидантной защиты в тканях полости рта крыс при воздействии липополисахарида и наночастиц золота и серебра / А. П. Левицький, А. К. Трохимчук, О. Б. Ткач - Вісник морської медицини. – 2013. - №3. С. 60 – 64.
5. Ткач О. Б. Влияние гелей с наночастицами золота или серебра на степень дисбиоза слизистой оболочки щеки крыс после воздействия липополисахарида. / О. Б. Ткач - Вісник стоматології – 2013. - №4. - С. 2 – 5.
6. Борисенко А. В. Экспериментальное обоснование применения препаратов нанозолота для лечения заболеваний пародонта / А. В. Борисенко, А. П. Левицький, О. Б. Ткач - Стоматолог практик – 2014. - №1. - С. 58-62.
7. Borysenko A. V. Influence of silicagel containing gold and silver nanoparticles on the biochemical indices of experimentally-induced inflammation of oral mucosa. / A. V. Borysenko, O. V. Lynovytska, O. B. Tkach - International Journal of Medical Dentistry. – 2014. - Volume 4. Issue 2. - P. 80 – 87.
8. А.В.Борисенко, А.П. Левицький, Ткач О.Б. Лечебно профилактическое действие геля с нанозолотом при экспериментально пародонтите // Актуальные проблемы транспортной медицины. – №3. – 2014 С. 91 – 96
9. Левицький А. П. Експериментальне визначення токсичності та оцінка сенсibiliзуючої дії муозального гелю «Нанозолото» / А. П. Левицький, О. Б. Ткач - Український журнал медицини, біології та спорту – 2015. - №2. - С. 203 – 207.
10. Борисенко А. В. Порівняльне вивчення протимікробної активності силікагелю з наночастинками золота та антисептиків різних груп відносно мікрофлори пародонтальних кишень. / А. В. Борисенко, О. Б. Ткач - Современная стоматология – 2016. - №2. – С.29 – 32.
11. Ткач О. Б. Мікробіологічне обґрунтування застосування наночасточок золота та срібла для лікування запальних захворювань тканин пародонту / О. Б. Ткач, О. М. Волощук - Современная стоматология – 2016. - №3. - С. 22 – 24.

12. Borysenko A. V. Influence of silica gel, containing nanoparticles of gold and silver, on the biochemical indices of the experimental inflammation of oral mucosa / A. V. Borysenko, O. V. Lynovytska, O. B. Tkach, S. I. Palamarchuk - International Journal of Medical Dentistry. - July / September 2016. - Volume 6 Issue 3 - P. 163 – 170.
13. Борисенко А. В. Экспериментальное обоснование применения препаратов нанозолота для лечения заболеваний пародонта. / А. В. Борисенко, А. П. Левицкий, О. Б. Ткач - Современная медицина: актуальные вопросы Сборник статей по материалам XXXII международной научно-практической конференции – 2014. - №6. - С. 50 – 65.

РОЗДІЛ 4

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ МУКО ЗАЛЬНОГО ГЕЛЮ «НАНОЗОЛОТО» В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ

Проведені доклінічні дослідження мукозального гелю «Нанозолото» показали його виражений терапевтичний ефект при експериментальному пародонтиті, внаслідок наявності у нього антибактеріальних, антидисбіотичних, протизапальних, антиоксидантних властивостей.

Це було підставою для клінічного дослідження пародонтопротекторного ефекту мукозального гелю «Нанозолото» як патогенетично обґрунтованого медикаментозного засобу для місцевого лікування хворих на генералізований пародонтит.

Клінічні дослідження (клініко-лабораторне обстеження та лікування) були проведені на групі хворих із захворюваннями пародонта - генералізованого пародонтиту I ступеня хронічного та загостреного перебігу (ГП Іст). Постановку діагнозу здійснювали відповідно до систематики захворювань пародонта М.Ф. Данилевського (1994).

Було обстежено 79 хворих на генералізований пародонтит I ступеня хронічного та загостреного перебігу (ГП Іст.), яких було поділено на 2 групи: основна група (40 хворих) та група порівняння (39 хворих) Лікування проводили загальноприйнятими методами згідно протоколів лікування МОЗ України (2004) в рамках заходів передбачених у Фазі I лікування генералізованого пародонтиту. Пацієнтам основної групи додатково до базового лікування в якості антибактеріального засобу застосовували оральні аплікації фітогелю «Нанозолото». На використання гелю «Нанозолото» отримано дозвіл Міністерства охорони здоров'я України (РЦ У 20.4-13903778-032/3:2013. Гігієнічний висновок № 05.03.02-07/5292 від 28.01.2014 р.). Випускається фітогель «Нанозолото» за ТУ У 20.4-13903778-032:2012 НВА «Одеська біотехнологія».

В групі порівняння в якості антибактеріального засобу використовували гель «Метрогіл дента».

Всім пацієнтам проведено комплексне обстеження тканин пародонта за загальноприйнятою схемою. Діагностику проводили на підставі оцінки загального стану організму, даних анамнезу, наявності загальних та місцевих етіологічних та патогенетичних чинників, зовнішнього огляду та огляду порожнини рота, індексної оцінки стану порожнини рота, а також, з урахуванням показників додаткових методів дослідження: рентгенографія тощо.

Стан пародонта і гігієни порожнини рота оцінювали за характером змін індексів РМА, ОНІ-S та індексу кровоточивості РВІ.

Стан тканин пародонта оцінювали за допомогою біохімічних показників слини [132,134]. В якості маркерів запалення визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) і активність протеолітичного ферменту еластази. В якості показника мікробного обсіменіння визначали активність мікробного фермента уреазі, показником стану неспецифічного імунітету слугувала активність фермента лізоциму. За співвідношенням відносних активностей уреазі і лізоцима розраховували ступінь дисбіозу за А. П. Левицьким [132]. Показником стану антиоксидантної системи були активність каталази і антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ, який розраховували за співвідношенням активності каталази і вмісту МДА [132].

4.1. Клінічна оцінка ефективності лікування хворих генералізованим пародонтитом I ступеня хронічного перебігу

Хворі на ГП Іст як загостреного, так хронічного перебігу, вже після 2-3 сеансів застосування мукозального гелю «Нанозолото» відмічали покращення стану пародонта: відсутність відчуття дискомфорту в яснах, нормалізацію кольору ясен, припинення кровоточивості, болю в яснах. Відразу після

закінчення першого етапу лікування хворі відчували відсутність неприємного запаху з рота, зникнення набряку ясен. Після закінчення лікування, тобто після 5-7 сеансів лікування, об'єктивно спостерігали нормалізацію кольору, консистенції, конфігурації маргінального краю ясен, зменшення набряку. Глибина пародонтальних кишень була в межах від 1,0 до 1,5мм, виділення – незначні. Патологічна рухомість зубів була відсутня. В контрольній групі аналогічні результати були отримані лише після 8-10 сеансів лікування.

4.1.1. Індексна оцінка стану пародонта в динаміці лікування хворих на генералізований пародонтит I ступеня

Аналіз динаміки показників пародонтальних індексів у хворих з ГП Іст. був проведений на етапах лікування і його порівнювали з аналогічними показниками пацієнтів групи порівняння.

Початкові показники індексної оцінки стану пародонта у пацієнтів на ГП Іст хронічного та загостреного перебігу приведені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1
Індексна оцінка стану пародонта у хворих на генералізований пародонтит I ступеня до лікування (M±m)

ІНДЕКСИ (середнє значення)	ГРУПИ				Рівень значущості відмінності, р
	Основна		Порівняння		
	Хронічни й перебіг	Загострени й перебіг	Хронічни й перебіг	Загострени й перебіг	
РМА (бал)	1,18±0,06	1,84±0,01	1,17±0,04	1,85±0,01	p1=0,97 p2=0,32
ОHI-S (бал)	2,16±0,03	2,51±0,02	2,14±0,04	2,49±0,01	p1=0,11 p2=0,24
кровоточивість	1,25±0,02	2,11±0,04	1,23±0,05	2,14±0,04	p1=0,97 p2=0,49

Примітка: p1 – рівень значущості відмінності між групами із хронічним перебігом захворювання; p2 – рівень значущості відмінності між групами із загостреним перебігом захворювання.

Як видно з даних таблиці 4.1 не виявлено статистичної відмінності між середніми показниками індексів основної групи і групи порівняння. Тобто, можна вважати стан пародонта у пацієнтів обох груп до лікування ідентичним.

Враховуючи, що одним із важливих критеріїв тяжкості запального процесу в пародонті є ступінь тяжкості симптоматичного гінгівіту, було вивчено характеристику симптоматичного гінгівіту у пацієнтів обох груп. Це було зроблено за допомогою індексу РМА (Parma). Було виявлено, що у всіх пацієнтів з хронічним перебігом пародонтита, гінгівіт середнього ступеня тяжкості. При загостренні процесу симптоматичний гінгівіт набуває характеру загостреного хронічного катарального гінгівіта і за показниками РМА відноситься до важкого ступеня.

Протягом лікування, і в основній і в контрольних групах пацієнтів з *хронічним перебігом запального процесу*, відмічена позитивна динаміка індексу РМА. Це свідчить про зниження тяжкості запалення з середнього до легкого ступеня гінгівіту. В основній групі пацієнтів цей показник знижувався за більш короткий термін часу і зниження даних індексу було більш вираженим. Зокрема після застосування мукозального гелю «Нанозолото» відбулося зниження ($p < 0,05$) індексу майже в 6 раз порівняно з початковим рівнем. В групі порівняння аналогічний показник РМА знизився ($p < 0,05$) лише в 3,34 рази. Після завершення курсу лікування середній показник індексу РМА в основній та групі порівняння пацієнтів з хронічним перебігом запального процесу знизився ($p < 0,05$) ще в 2 рази – до 0,11 та 0,18 балів відповідно (або до значень індексу РМА до 11% та 18%) (рис.4.1).

У *пацієнтів основної групи із загостреним перебігом генералізованого пародонтиту*, в динаміці відмічалися зміни ступеня тяжкості симптоматичного гінгівіту: зменшення набряку, гіперемії ясен. Але у 82% хворих зберігалась гіперемія маргінального краю ясен. Таким чином, оцінка індексу РМА свідчить про наявність легкого ступеня гінгівіту. В кінці курсу лікування у всіх 100% пацієнтів діагностували легкий ступінь гінгівіту (рис. 4.2).

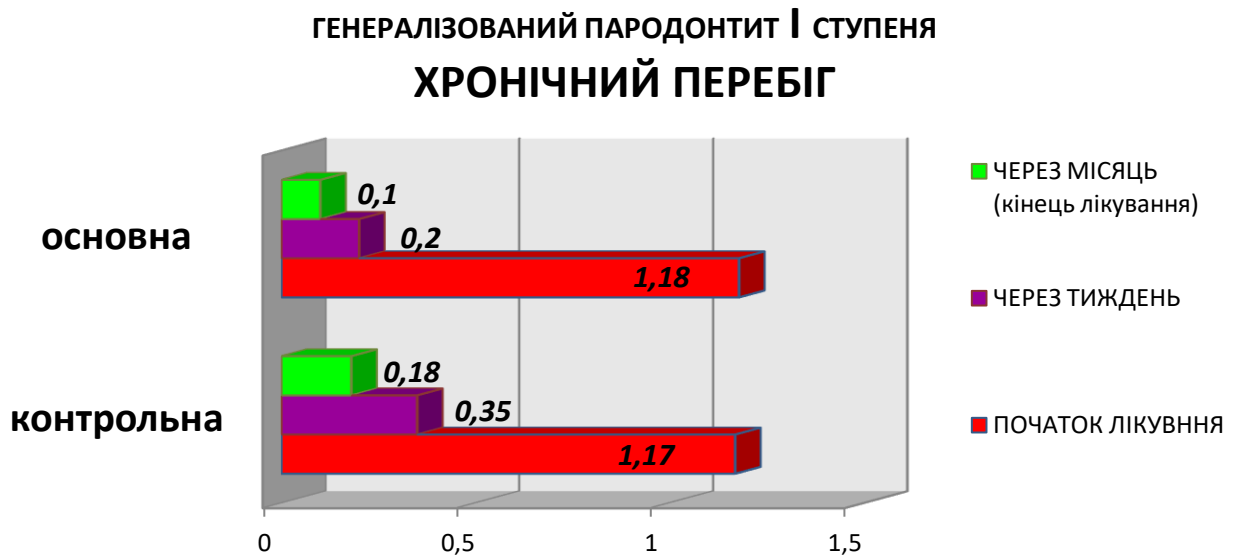


Рис. 4.1. Динаміка індексу РМА у хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу після закінчення лікування (найближчі результати)

В контрольній групі пацієнтів із загостреним перебігом генералізованого пародонтиту, цей процес відбувався аналогічно, однак тривав довше. Після першого етапу лікування лише у 20% хворих було діагностовано легкий ступінь гінгівіту, що на 62% менше, ніж в основній групі ($P < 0,05$). Інші 80% пацієнтів контрольної групи мали зміни стану на межі переходу до середнього ступеня гінгівіту. В кінці курсу лікування показники досягли рівня легкого ступеня гінгівіту у 100% пацієнтів, але цей процес тривав на 3-4 відвідування більше, а ніж в основній групі.

В кінці першого етапу лікування середнє значення індексу РМА в основній групі пацієнтів із загостреним перебігом генералізованого пародонтиту знизилось ($p < 0,05$) в 5,4 рази і становило 0,34 (позитивний результат лікування). В контрольній групі відбулося зменшення індексу РМА лише в 2,9 разу.

По завершенні курсу лікування середнє значення індексу РМА в обох групах зменшилось ($p < 0,05$) ще в 1,5 разу що відповідало легкому ступеню гінгівіту (рис. 4.2).

ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ І СТУПЕНЯ ЗАГОСТРЕНИЙ ПЕРЕБІГ

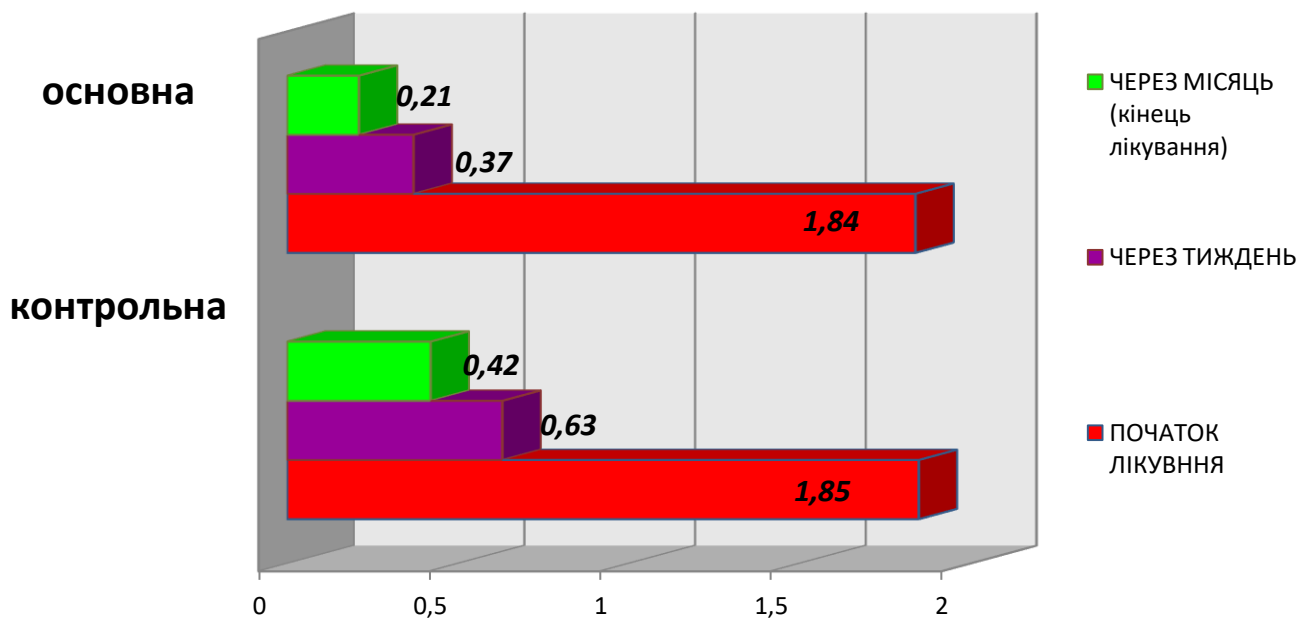


Рис. 4.2. Динаміка індексу РМА у хворих на генералізований пародонтит після закінчення лікування (найближчі результати)

Дистрофічно-запальний процес в пародонті знаходиться в прямій кореляційній залежності з гігієнічним станом порожнини рота.

При первинному огляді гігієнічного стану порожнини рота хворих на генералізований пародонтит І ступеня хронічного та загостреного перебігу, у всіх пацієнтів виявлено незадовільний стан гігієни порожнини рота.

Після І етапу лікування, у пацієнтів з хронічним перебігом запального процесу, значення індексу ОНІ -S знизився в 3,2 разу (відмітка «задовільно»). Більш високий ($p < 0,05$) коефіцієнт інтенсивності зубних відкладень (на 11% вище) в контрольній групі, свідчить про більш сприятливі результати лікування в основній групі.

Отримані результати свідчать про достатньо високу ефективність проведених гігієнічних та лікувальних заходів.

Показник індексу ОНІ -S, в кінці курсу лікування, знизився в 6 разу («хороша» гігієна порожнини рота, що в 1,5 рази ($p < 0,05$) менше порівняно з

групою порівняння. Це свідчить про стабільність досягнутих результатів застосування гелю «Нанозолото» (рис.4.3).

Незважаючи на те, що стан гігієни в обох групах характеризується як «задовільний», ступінь ризику погіршення гігієни порожнини рота в основній групі становить 8%, а в групі порівняння – на 32% вище (досягає 40%).

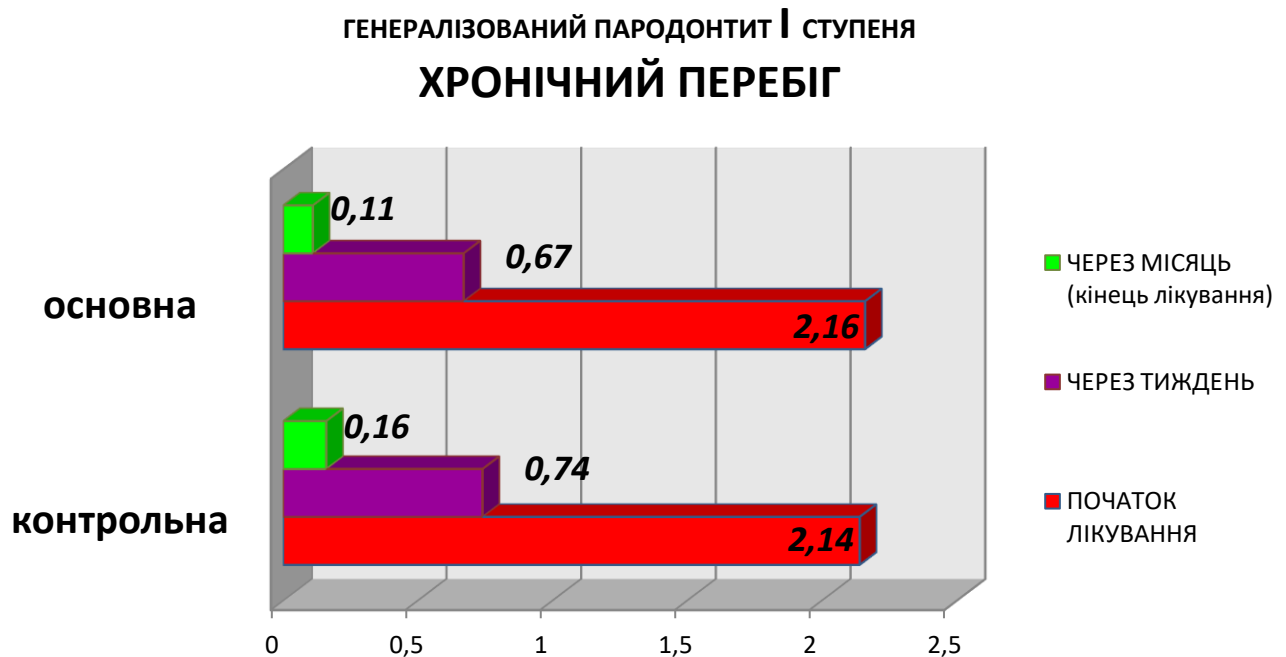


Рис. 4.3. Динаміка індексу ОНІ-S у хворих на генералізований пародонтит після закінчення лікування (найближчі результати)

Стан гігієни порожнини рота хворих на генералізований пародонтит I ступеня загостреного перебігу як в основній так і в контрольній групах за значенням індексу ОНІ –S становив 2,50 та 2,49 балів відповідно («незадовільна гігієна») порожнини рота. В процесі лікування, аналіз змін індексу гігієни показав, що проведення професійної гігієни, навчання правилам гігієни, проведення медикаментозного лікування призвело до зниження показників індексу ОНІ –S, але в контрольній і основній групах цей процес відбувався з різною швидкістю ($p < 0,05$).

Після проведення першого етапу лікування, середнє значення індексу ОНІ –S в основній групі знизилось в 2,15 разу, а в контрольній – в 1,57 разу і оцінювалось як «задовільне». По закінченні курсу лікування значення індексу

ОHI –S знизилось ще в 3,2 разу - «гарна гігієна» та в 1,9 раз - «задовільна гігієна» в основній групі та в контрольній групах відповідно (рис.4.4).

Різниця між середніми показниками індексу ОHI –S в основній та контрольній групах протягом лікування та по його завершенні статистично достовірні ($p < 0,05$).

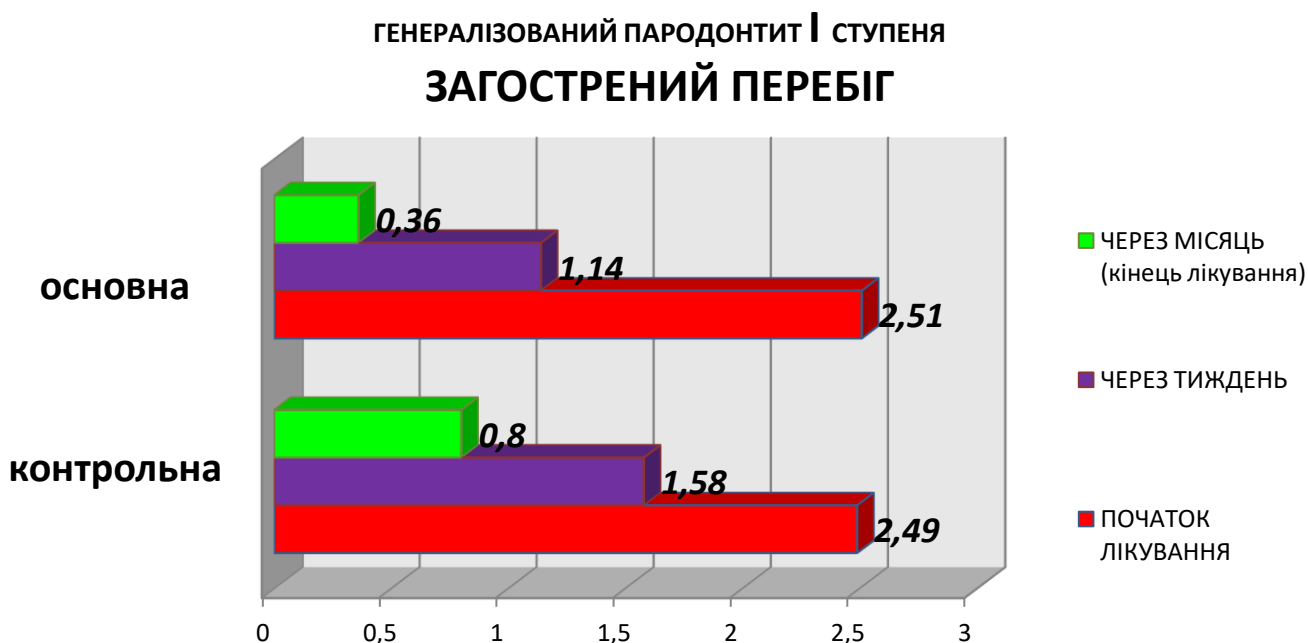


Рис. 4.4. Динаміка індексу ОHI-S у хворих на генералізований пародонтит після закінчення лікування (найближчі результати)

З метою оцінки антигеморагічних властивостей мукозального гелю «Нанозолото» та комплексу лікувально-гігієнічних заходів, було вивчено динаміку індексу кровоточивості ясен на етапах лікування.

До лікування у хворих на *генералізований пародонти І ступеня хронічного перебігу*, коефіцієнт кровоточивості в основній групі становив 22,7% та в групі порівняння 20,9% («значна» кровоточивість в обох групах). Після першого етапу лікування індекс кровоточивості знизився ($p < 0,05$) в 3,4 разу в основній групі та в 2 рази в групі порівняння.

Після закінчення курсу лікування рівень індексу кровоточивості знизився в основній групі в 2,3 разу - до 0,16 балів - кровоточивість ясен майже

відсутня. Аналогічні зміни індексу були і в контрольній групі – індекс кровоточивості знизився в 2,6 разу – до 0,23 балів (рис.4.5).

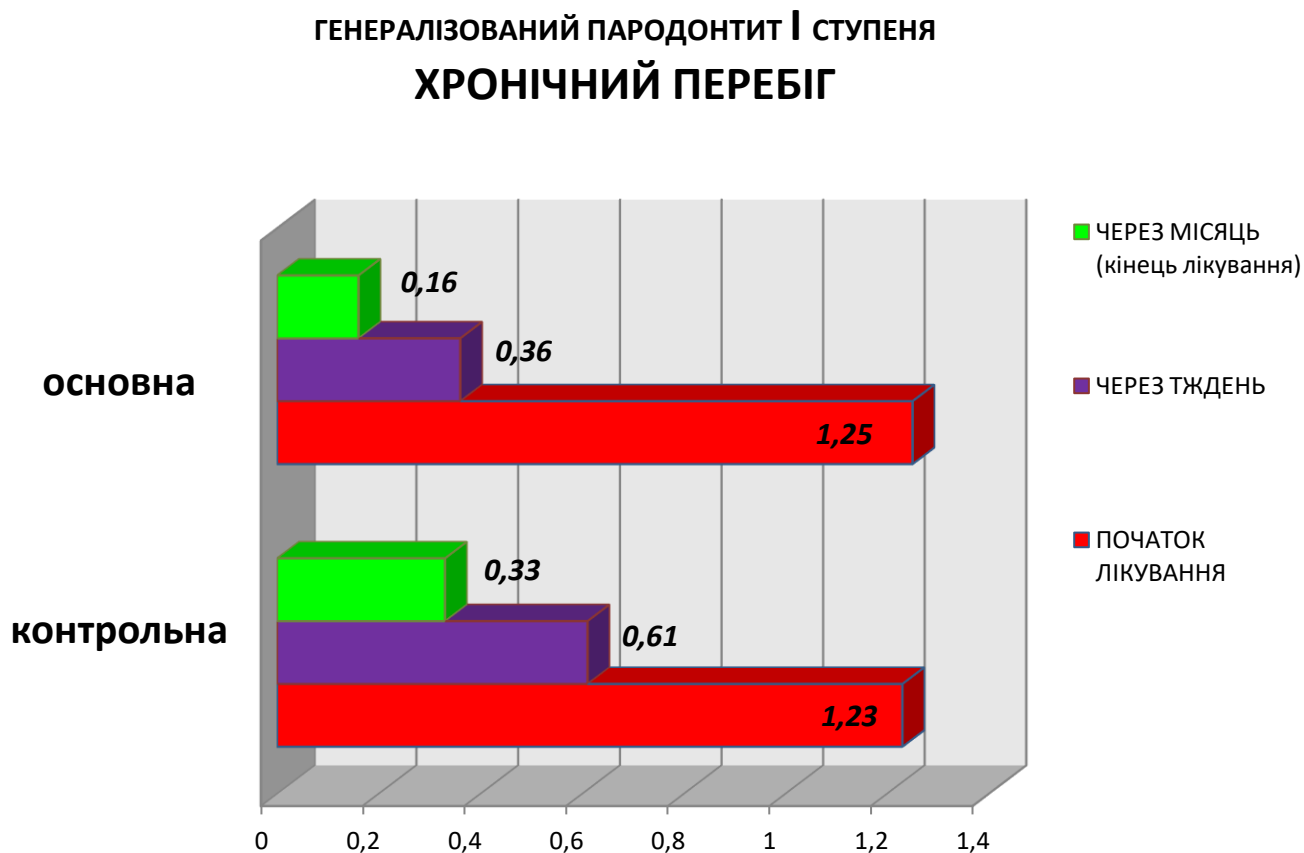


Рис. 4.5. Динаміка індексу РВІ у хворих на генералізований пародонтит після закінчення лікування (найближчі результати)

Індексна оцінка кровоточивості ясен при первинному огляді в основній та контрольній групах хворих на генералізований пародонти І ступеня загостреного перебігу характеризувалась як «значна» з середнім значенням величини індексу 1,57.

Покращення індексу кровоточивості в динаміці лікування відмічається вже на першому етапі лікування: зниження середнього значення індексу в основній групі майже в 3,5 рази, а в контрольній в 2 – «слабка кровоточивість».

По закінченні курсу лікування показники ще знизились ($p < 0,05$) в 2,25 рази в основній та 1,8 рази в контрольній групі (рис.4.6).

ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ І СТУПЕНЯ ЗАГОСТРЕНИЙ ПЕРЕБІГ

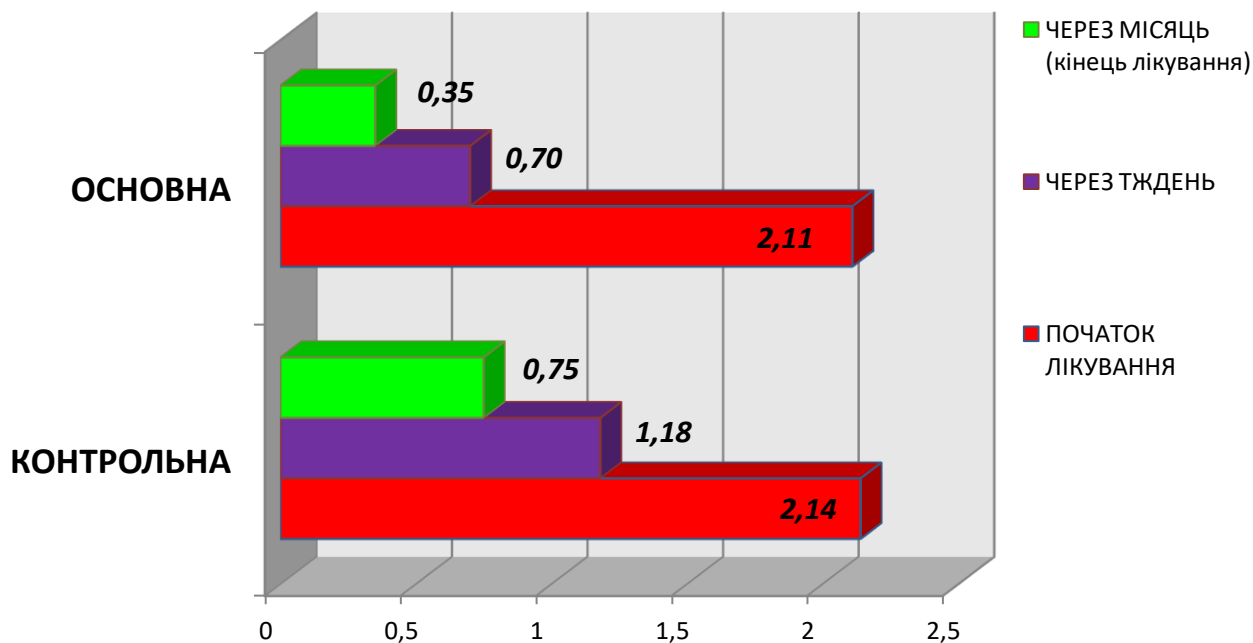


Рис. 4.6. Динаміка індексу РВІ у хворих на генералізований пародонтит після закінчення лікування (найближчі результати)

Після закінчення лікування стабілізація дистрофічно-запального процесу в пародонті відмічена у всіх 100,0% пацієнтів основної групи та 36 (92,3%) пацієнтів групи порівняння.

Таким чином, клінічна ефективність запропонованих лікувально-профілактичних заходів із застосуванням мукозольного гелю «Нанозолото» в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту І ступеня хронічного та загостреного перебігу підтверджується клініко-рентгенологічними показниками та динамікою пародонтальних індексів стану тканин пародонта.

4.1.2 Віддалені результати лікування хворих на генералізований пародонтит I ступеня

Оцінка ефективності лікування хворих на генералізований пародонтит у віддалені терміни – 6 та 12 місяців проводили на основі аналізу клініко-рентгенологічних, індексних, статистичних методів дослідження. Для об'єктивності оцінки змін в тканинах пародонта у віддалені терміни визначали середні результати, отримані в кінці курсу лікування.

При клінічному дослідженні проводили оцінку стану ясен, глибини пародонтальних кишень, визначали наявність та характер ексудату, ступінь патологічної рухомості зубів, стан оклюзії. За допомогою рентгенологічного дослідження визначали стан коміркової кістки, ступінь та характер резорбції, остеопороз, стан періодонтальної щілини. Також проводили індексну оцінку стану тканин пародонта.

Результати лікування вважали позитивними, якщо відмічали стабілізацію дистрофічно-запального процесу в тканинах пародонта.

Віддалені результати лікування спостерігали через 6 та 12 місяців – у всіх 79 пацієнтів.

Результати лікування хворих на генералізований пародонти через 6 місяців

Майже у всіх пацієнтів обох груп відмічали зменшення кровоточивості ясен та патологічної рухомості зубів, зникнення неприємних відчуттів в порожнині рота. Клінічно виявляли ущільнення маргінального краю ясен, відсутність або незначну гіперемію ясенних сосочків. Глибина пародонтальних кишень відповідала ступеню тяжкості патологічного процесу, виділення з кишень скудні, серозного характеру.

Рентгенологічно стабілізація дистрофічно-запального процесу у хворих на генералізований пародонтит I ступеня захворювання відмічена у 39 (97,5%) пацієнтів основної та 33 (84,61%) пацієнтів групи порівняння.

Індексна оцінка дозволила більш точно оцінити стан тканин пародонта і індивідуально підійти до питання про призначення того чи іншого виду лікування. Результати динаміки індексів стану тканин пародонта хворих на генералізований пародонтит через 6 місяців представлені в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

Індексна оцінка стану пародонта у хворих на генералізований пародонтит I ступеня хронічного та загостреного перебігу через 6 місяців після лікування

Групи хворих	Індекси (M±m)		
	РМА (бал)	ОHI-S (бал)	Кровоточивість
Основна група	0,28±0,01	0,37±0,02	0,46±0,02
Контрольна група	1,05±0,02	0,99±0,03	1,07±0,02
p	<0,001	<0,001	<0,001

В основній групі середнє значення РМА збільшилося на 0,12 бали, в контрольній – на 0,75 бала, тобто, ступінь погіршення стану тканин пародонта в групі порівняння був в 6 раз вищий ($p < 0,05$), ніж в основній.

При аналізі стану гігієни порожнини рота в основній групі відмічалось збільшення індексу ОHI-S на 0,14 бала, а в контрольній - на 0,25 бала. Ступінь погіршення гігієнічного стану порожнини рота в групі порівняння («задовільна» гігієна) був у 2 рази більшим ($p < 0,05$), ніж в основній («гарна» гігієна). Зміни індексу кровоточивості корелювали з індексом РМА.

Аналіз клініко-рентгенологічних та індексних показників стану тканин пародонта дозволив розробити диференційний підхід до призначення протирецидивного лікування та лікувально-профілактичних заходів.

Пацієнти з видимим клінічним благополуччям тканин пародонта, рентгенологічною стабілізацією процесу в комірковій кістці та показниками індексу РМА до 0,17 бала не потребували протирецидивного лікування. Їм проводили контроль гігієни порожнини рота, корекцію індивідуальних засобів гігієни та консультації по харчуванню та загальному стану організму.

Пацієнтам зі скаргами на періодичну кровоточивість та свербіж в яснах, з наявністю обмеженого маргінального гінгівіту та стабілізацією дистрофічно-

запального процесу в комірковій кістці, з показниками індексу РМА від 0,47 до 0,24 бала призначали превентивний курс: 1) контроль та корекцію індивідуальної гігієни порожнини рота; 2) проведення професійної гігієни порожнини рота; 3) аплікації мукозального гелю «Нанозолото» - 2-3 сеанси (для основної групи); 4) вітамінотерапія.

Пацієнтам з вираженими клінічними ознаками загострення генералізованого пародонтиту та показниками індексу РМА більше 0,24 бала призначали комплексне лікування генералізованого пародонтиту у повному обсязі.

Таким чином, розроблена методика лікування хворих генералізованим пародонти том з використанням мукозального гелю «Нанозолото» дозволила досягти стійкої стабілізації дистрофічно-запального процесу в тканинах пародонта через 6 місяців після лікування. Так, 29 (72,5%) пацієнтів основної групи не потребували лікування, а в групі порівняння цей показник був гіршим: 23 (58,97%) пацієнтів цієї групи потребували комплексної терапії у повному обсязі ($p < 0,05$).

Результати лікування хворих на генералізований пародонти через 12 місяців

Віддалені результати лікування хворих на ГП Іст через 12 місяців після проведення курсу лікування простежені у 79 пацієнтів. Відмічена стабілізація дистрофічно-запального процесу у 36 (90%) хворих на генералізований пародонтит I ступеня основної групи та 28 (71,79%) пацієнтів групи порівняння.

При обстеженні пацієнтів основної групи у 18 (45%) виявлені скарги на періодичну кровоточивість ясен, особливо при чищенні зубів, незначний ниючий біль та свербіж в яснах, неприємний запах з рота вранці. В групі порівняння аналогічні скарги пред'являли практично всі 39 (100,0%) пацієнтів. Об'єктивно у 22 (55%) пацієнтів основної групи та 33 (84,61%) хворих групи

порівняння було виявлено симптоматичний катаральний гінгівіт різного ступеню тяжкості та характеру перебігу.

Глибина пародонтальних кишень, результати рентгенологічних досліджень та ступінь рухомості зубів відповідали I ступеню генералізованого пародонтиту. Проведена індексна оцінка стану пародонта дозволила скласти комплексну оцінку патологічного процесу тканин пародонта через 12 місяців після лікування в основній та групі порівняння (табл. 4.3, рис. 6.7-6.9).

Таблиця 4.3

Індексна оцінка стану пародонта у хворих на генералізований пародонтит I ступеня хронічного та загостреного перебігу через 12 місяців лікування

Групи хворих	Індекси (середнє начення в балах)		
	PMA	ОHI-S	Кровоточивість
Основна група	0,60±0,01	0,65±0,01	1,07±0,01
Контрольна група	1,33±0,03	1,7±0,02	1,35±0,02
p	<0,001	<0,001	<0,001

Через рік після лікування спостерігалось погіршення показників індексів, причому в групі порівняння ці показники в 1,5-2,0 рази гірші ($p < 0,05$), ніж в основній. За результатами вивчення розповсюдженості симптоматичного гінгівіту в основній групі у 5 (33,33%) відмічений легкий ступінь гінгівіту при генералізованому пародонтиті I ступеня, а у 2 (16,67%) - середній ступінь. В групі порівняння легкий ступінь симптоматичного гінгівіту не виявлено взагалі, а у 4 (33,3%) - гінгівіт тяжкого ступеню.

В результаті проведеного аналізу клінічних та індексних показників стану тканин пародонта після лікування генералізованого пародонтиту через 12 місяців можна зробити заключення про те, що ефективність лікування генералізованого пародонтиту в основній групі в 2 рази вище ($p < 0,05$), ніж в групі порівняння.

В групі пацієнтів з ГП Іст, які використовували мукозальний гель «Нанозолото» 32 (80%) хворих навіть через рік не потребували лікування.

В групі порівняння 18 (46,15%) хворих на ГП Іст потребували комплексної терапії у повному обсязі, в основній групі таких пацієнтів було лише 8 (20%).

Таким чином, застосування мукозального гелю «Нанозолото» в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту приводило до стійкого клінічного ефекту у найближчі та віддалені терміни спостереження.

У 37 (92,5%) хворих на ГП Іст основної групи відмічена ремісія тривалістю 12 місяців, тоді як в групі порівняння тільки у 19 (48,71%) пацієнтів з ГП Іст вдалося досягти нестійкої ремісії протягом 12 місяців.

4.2 Біохімічна оцінка стану пародонта в динаміці лікування хворих на генералізований пародонтит I ступеня хронічного перебігу

В таблиці 4.4 представлено дані про зміни швидкості салівації у хворих на ГП Іст, які отримували оральні аплікації фітогелю «Нанозолото». З цих даних видно, що у хворих майже вдвічі знижується салівація, яка підвищується після лікування з застосуванням фітогелю «Нанозолото».

Таблиця 4.4

Вплив оральних аплікацій фітогелю на салівацію хворих на генералізований пародонтит

№№ п/п	Групи	n	Салівація, мл/хв
1	Здорові	15	0,60±0,05
2	Генералізований пародонтит I ступеня, хронічного перебігу (ГП-Іст)		
2.1	ГП-Іст, до лікування	27	0,34±0,08 p<0,05
2.2	ГП-Іст, основна група після лікування 2 тижні	15	0,37±0,03 p<0,05; p ₁ >0,3
2.3	ГП-Іст, група порівняння після лікування 2 міс.	12	0,48±0,03 p<0,05; p<0,05
2.4	ГП-Іст, основна група після лікування 2 міс.	15	0,57±0,03 p>0,05; p ₁ <0,01; p ₂ <0,05

Примітки. p – порівнянно з гр. № 1; p₁ – порівнянно з гр. № 2.1; p₂ – в порівнянно з гр. № 2.3.

В таблиці 4.5 наведено результати визначення в слині маркерів запалення. Так, у хворих на пародонтит в 2,3 разів зростає активність еластази і більше, ніж у 1,5 разів – рівень МДА. Проведене лікування з використанням фітогелю «Нанозолото» знижує ці показники через 2 місяці після початку лікування на 19 % (еластаза) і на 53 % (МДА), тоді як в групі порівняння ці показники знижені лише на 1,4 % (еластаза) і 17,6 % (МДА) і достовірно відрізняються від даних основної групи ($p < 0,05$).

Таблиця 4.5

Вплив оральних аплікацій фітогелю «Нанозолото» на рівень маркерів запалення в слині хворих на генералізований пародонтит

№№ п/п	Групи	n	Еластаза, мк-кат/л	МДА, ммоль/л
1	Здорові	15	0,32±0,03	0,20±0,02
2	Генералізований пародонтит I ступеня, хронічного перебігу (ГП-Іст)			
2.1	ГП-Іст, до лікування	27	0,74±0,10 $p < 0,01$	0,34±0,08 $p < 0,05$
2.2	ГП-Іст, основна група після лікування 2 тижні	15	0,53±0,05 $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$	0,18±0,04 $p > 0,3$; $p_1 < 0,05$
2.3	ГП-Іст, група порівняння після лікування 2 міс.	12	0,73±0,08 $p < 0,014$; $p_1 > 0,8$	0,28±0,02 $p < 0,05$; $p_1 > 0,3$
2.4	ГП-Іст, основна група після лікування 2 міс.	15	0,60±0,04 $p < 0,05$; $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,16±0,02 $p > 0,05$; $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – порівняно з гр. № 1; p_1 – порівняно з гр. № 2.1; p_2 – порівняно з гр. № 2.3.

В таблиці 4.6 показано зміни рівня в слині активності уреаз, лізоциму та ступеню дисбіозу у хворих на ГП Іст. Видно, що у хворих активність уреаз зростає в 3 рази, що свідчить про збільшення мікробного обсіменіння. В той час активність лізоциму знижується в 2,5 разу, що дає підставу оцінювати її як суттєве зниження рівня неспецифічного імунітету. Як наслідок, у хворих на ГП

Іст ступінь дисбіозу в ротовій порожнині збільшується в 7,75 разу. Проведене лікування знижує активність уреазу, збільшує активність лізоциму та знижує ступінь дисбіозу на 30,9 % (група порівняння) і на 64 % (основна група). Різниця між групами статистично достовірна ($p < 0,05$).

Таблиця 4.6

Вплив оральних аплікацій фітогелю «Нанозолото» на активність уреазу, лізоциму та ступінь дисбіозу в слині хворих на генералізований пародонтит

№№ п/п	Групи	n	Уреазу, мк-кат/л	Лізоцим, од/л	Ступінь дисбіозу
1	Здорові	15	0,010±0,002	85±6	1,00±0,15
2	Генералізований пародонтит I ступеня, хронічного перебігу (ГП-Іст)				
2.1	ГП-Іст, до лікування	27	0,031±0,007 $p < 0,05$	34±8 $p < 0,01$	7,75±0,98 $p < 0,001$
2.2	ГП-Іст, основна група після лікування 2 тижні	15	0,010±0,005 $p = 1$; $p_1 < 0,05$	57±8 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	1,49±0,26 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$
2.3	ГП-Іст, група порівняння після лікування 2 міс.	12	0,024±0,006 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	37±5 $p < 0,01$ $p_1 > 0,5$	5,45±0,71 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$
2.4	ГП-Іст, основна група після лікування 2 міс.	15	0,023±0,010 $p > 0,05$ $p_1 > 0,5$ $p_2 > 0,8$	70±7 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	2,80±0,33 $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – порівнянно з гр. № 1; p_1 – порівняно з гр. № 2.1; p_2 – порівняно з гр. № 2.3.

В таблиці 4.7 представлено результати визначення активності каталази та індексу АПІ в слині хворих на ГП Іст. У хворих основної групи в 3 рази

знижується активність каталази і в 5,5 разу – індекс АПІ. Це свідчить про суттєві порушення балансу антиоксидантних і прооксидантних систем. Лікування з використанням гелю «Нанозолото» підвищує активність каталази на 72,7 % і індекс АПІ – в 3,7 разу, тоді як в групі порівняння активність каталази збільшується лише на 9 % і індекс АПІ – на 34 %. Різниця між групами статистично достовірна ($p < 0,05$).

Таблиця 4.7

Вплив оральних аплікацій фітогелю «Нанозолото» на активність каталази і індекс АПІ в слині хворих на генералізований пародонтит

№№ п/п	Групи	n	Каталаза, мкат/л	АПІ
1	Здорові	15	0,35±0,03	17,5±1,8
2	Генералізований пародонтит I ступеня, хронічного перебігу (ГП-Іст)			
2.1	ГП-Іст, до лікування	27	0,11±0,03 $p < 0,01$	3,2±0,4 $p < 0,001$
2.2	ГП-Іст, основна група після лікування 2 тижні	15	0,20±0,02 $p < 0,01$; $p_1 < 0,05$	11,1±1,3 $p < 0,05$; $p_1 < 0,01$
2.3	ГП-Іст, група порівняння після лікування 2 міс.	12	0,12±0,03 $p < 0,01$; $p_1 > 0,5$	4,3±0,6 $p < 0,001$; $p_1 > 0,05$
2.4	ГП-Іст, основна група після лікування 2 міс.	15	0,19±0,02 $p < 0,01$; $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	11,9±1,4 $p < 0,05$; $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$

Примітка: p – порівняно з гр. № 1; p_1 – порівняно з гр. № 2.1; p_2 – порівняно з гр. № 2.3.

Для ілюстрації отриманих клінічних безпосередніх та віддалених результатів лікування приводимо виписку із історії хвороби хворих на генералізований пародонтит.

Клінічний випадок №1

Хворий Крамський А.Є., 27 років, історія хвороби №.3560

Дата: 20.03.2014 рік

Скарги: на печію, дискомфорт в яснах; кровоточивість ясен під час чищення зубів; рідка кровоточивість при вживанні твердої їжі.

Розвиток захворювання. Вважає себе хворим протягом останніх 2-3-х років. Раніше за допомогою до стоматолога не звертався, лікування не проводилось. Чищення зубів нерегулярне, зубною щіткою з м'якою щетиною. Загальний стан задовільний, системних захворювань не відмічає.

Об'єктивно: Слизова оболонка ясен у ділянці фронтальних зубів набрякла з ціанотичним відтінком. На всіх зубах виявлена значна кількість м'якого зубного нальоту. На язикових поверхнях нижніх фронтальних зубів відкладення зубного каменю у помірній кількості. Патологічна рухомість нижніх фронтальних зубів відсутня. При зондуванні виявлені пародонтальні кишені в ділянці нижніх фронтальних зубів глибиною 0,5-1 мм. Виділення з пародонтальних кишень в незначній кількості серозного характеру. Шийки зубів оголені на 0,3-0,4 мм. Інші ділянки слизової оболонки порожнини рота без патологічних змін. Прикус ортогнатичний.

При індексній оцінці стану пародонта виявлено:

Індекс РМА=44,04% (середній ступінь запалення)

Індекс ОНІ-S=1.33 (середнєзначення, задовільна гігієна)

Індекс РВІ=1,78 (помірна кровоточивість).

Рентгенографія. На ортопантограмі відмічено порушення цілісності компактної пластинки, незначний остеопороз та резорбція верхівок міжальвеолярних перегородок в межах 1/3 їх висоти.

Діагноз: генералізований пародонтит, I ступінь, хронічний перебіг.



Рис. 4.7. Хворий Крамський А.Є., до лікування. Д-з: генералізований пародонтит, I ступінь, хронічний перебіг. Ясенні сосочки набрякли з ціанотичним відтінком. Шийки зубів оголені. Помірні відкладення зубного каменю на язиковій поверхні нижніх фронтальних зубів.

Лікування. Навчання пацієнта навичкам раціональної гігієни порожнини рота. Полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Проведена професійна гігієна порожнини рота з поліруванням поверхонь зубів. Аплікація на ясна в ділянці фронтальних зубів гелю «НАНОЗОЛОТО».

Пацієнту надані рекомендації стосовно підбору засобів гігієни порожнини рота: зубна паста «Пародонтакс», зубні нитки, зубні «йоршики», зубний еліксир-ополіскувач «Лакалут».

Проведено лікування зубів: заміна пломби з порушенням крайового прилягання в 26 зубі, усунення нависаючих країв пломб в 27 зубі, відновлення контактних пунктів в 26 та 27 зубах, пломбування каріозних порожнин в 36 зубі.

Рекомендована консультація та лікування у хірурга (пластика присінка порожнини рота, вуздечки), консультація та лікування у ортопеда.

Дата: 28.03.2014 рік (через місяць)

Стан пацієнта задовільний, скарги відсутні, незначна кровоточивість ясен під час чищення зубів.

Об'єктивно: Ясна в ділянці нижніх фронтальних зубів дещо набряклі.

Проведений огляд порожнини рота, полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Контроль гігієни порожнини рота.

При індексній оцінці стану пародонта виявлено:

Індекс РМА=2,38% (легке запалення)

Індекс ОНІ-S=0.16(низьке значення, добра гігієна)

Індекс РВІ=0,07 (легке запалення)

Лікування. Полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Корекція гігієни порожнини рота з поліруванням поверхонь зубів. Аплікація на ясна в ділянці фронтальних зубів гелю «НАНОЗОЛОТО». Рекомендації пацієнту: гігієнічний догляд за порожниною рота обраними гігієнічними засобами. Аплікації на ясна гелю «НАНОЗОЛОТО» двічі на день.

Дата: 03.03.2015 рік (через 12 місяців)

Контрольний огляд через 12 місяців. Хворий скарж не пред`являє.

Об'єктивно. Ясна блідо-рожевого кольору, не кровоточать. Відмічаються незначні м'які зубні відкладення у ділянці нижніх фронтальних зубів. Зуби нерухомі.

Проведений огляд порожнини рота, полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Контроль гігієни порожнини рота.

При індексній оцінці стану пародонта виявлено:

Індекс РМА=11,90% (легкий ступінь запалення)

Індекс ОНІ-S=0,33 (низьке значення, добра гігієна)

Індекс РВІ=0,17 (незначна кровоточивість).



Рис. 4.8. Хворий Крамський А.Є.. через 12 місяців після лікування. Ясна блідо-рожевого кольору, щільні, не кровоточать.

Клінічний випадок №2

Хворий: Волохін В.С., 48 років, історія хвороби №.2760

Дата: 10.03.2014 рік

Скарги на болючість, кровоточивість ясен під час споживання твердої їжі, неприємний запах із рота.

Розвиток захворювання. Хворим себе вважає близько 20 років. Кровоточивість ясен під час чищення та вживанні твердої їжі з'явилась давно. Лікування проводилось нерегулярно. Останнім часом відмічається зміна положення зубів, їх рухливість. Періодично виділяється гній з підкраю ясен. В лікуванні застосовували настоянки трав (ромашка, кора дуба), а також гель «Метрогіл Дента». Досягнутий ефект від раніше проведеного лікування короткочасний.

Об'єктивно: У ділянці фронтальних зубів слизова оболонка ясен гіперемована, з ціанотичним відтінком, Конфігурація ясеневих сосочків змінена (не щільно прилягають до зубів). При зондуванні визначаються пародонтальні кишені в 44,43,42,41,31,32,33,34 зубах до 3-5мм. На всіх зубах виявлена значна кількість м'якого зубного нальоту. На язикових поверхнях нижніх фронтальних зубів відкладення зубного каменю у нерівномірній кількості. Відмічається патологічна рухомість I ступеня нижніх фронтальних зубів (41,31). При зондуванні виявлені пародонтальні кишені в ділянці нижніх фронтальних зубів глибиною 0,5-1 мм. Виділення з пародонтальних кишень в незначній кількості серозного характеру. Шийки зубів оголені на 0,3-0,4 мм. Інші ділянки слизової оболонки порожнини рота без патологічних змін. Прикус ортогнатичний.

При індексній оцінці стану пародонта виявлено:

Індекс РМА=53,76% (тяжке запалення)

Індекс ОНІ-S=2,16 (високе значення, незадовільна гігієна)

Індекс РВІ=2,10 (тяжке запалення)

На рентгенограмі: нерівномірна деструкція міжзубних перетинок ділянці фронтальних зубів нижньої щелепи до 1/2 довжини кореня.

Діагноз: генералізований пародонтит, II ступінь, хронічний перебіг.



Рис.4.9. Хворий Волохін В.С., до лікування. Д-з: генералізований пародонтит, II ступінь, хронічний перебіг. Ясенні сосочки гіперемовані, з ціанотичним відтінком. Шийки зубів оголені. Нерівномірні відкладення зубного каменю на язиковій поверхні нижніх фронтальних зубів.

Лікування: Навчання пацієнта навичкам раціональної гігієни порожнини рота. Полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Було проведено професійну гігієну порожнини рота з поліруванням поверхонь зубів, аплікація на ясна в ділянці фронтальних зубів гелю «НАНОЗОЛОТО».

Дані рекомендації стосовно підбору засобів гігієни порожнини рота: зубна паста «Пародонтакс», «Сенсодин», зубні нитки, зубні «йоршики», зубний еліксир-ополіскувач «Лакалут». Рекомендована консультація та лікування у хірурга (пластика присінка вуздечки верхньої губи). Консультація та лікування у ортопеда.

Дата: 14.04.2014 рік (через місяць)

Скарги: Стан пацієнта задовільний, скарги відсутні, незначна кровоточивість ясен під час чищення зубів.

Об'єктивно: Ясна в ділянці нижніх фронтальних зубів дещо гіперемовані.

Проведений огляд порожнини рота, полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Контроль гігієни порожнини рота.

При індексній оцінці стану пародонта виявлено:

Індекс РМА=4,30% (легке запалення)

Індекс ОНІ-S=0,16 (середнє значення, задовільна гігієна)

Індекс РВІ=0,12 (легке запалення)

Лікування. Полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Корекція гігієни порожнини рота з поліруванням поверхонь зубів. Аплікація на ясна в ділянці фронтальних зубів гелю «НАНОЗОЛОТО». Рекомендації пацієнту: гігієнічний догляд за порожниною рота обраними гігієнічними засобами.



Рис. 4.10. Хворий Волохін В.С., через місяць. Д-з: генералізований пародонтит, II ступінь, хронічний перебіг. Ясенні сосочки блідо-рожевого кольору, дещо гіперемовані, щільно прилягають до зубів, не кровоточать, виділень із пародонтальних кишень немає.

Дата: 20.04.2015 рік (через 12 місяців)

Після проведеного курсу лікування скарг не пред'являє.

Об'єктивно: Слизова оболонка ясен блідо-рожевого кольору, щільна не кровоточить, виділень із пародонтальних кишень немає.

Проведений огляд порожнини рота, полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Контроль гігієни порожнини рота.

При індексній оцінці стану пародонта виявлено:

Індекс РМА=13,97% (легке запалення)

Індекс ОНІ-S=0,50 (середнє значення, задовільна гігієна)

Індекс РВІ=0,25 (легке запалення)

Лікування. Полоскання порожнини рота 0,05% розчином хлоргексидину. Корекція гігієни порожнини рота з поліруванням поверхонь зубів. Аплікація на ясна в ділянці фронтальних зубів гелю «НАНОЗОЛОТО». Рекомендації пацієнту: гігієнічний догляд за порожниною рота обраними гігієнічними засобами.



Рис. 4.11. Хворий Волохін В.С., через 12 місяців після лікування. Ясенні сосочки блідо-рожевого кольору, дещо гіперемовані, щільно прилягають до зубів, не кровоточать, виділень із пародонтальних кишень немає.

Клінічний випадок №3

Хворий: Тасенюк І.М., 31 рік, історія хвороби №.4135

Дата: 27.02.2014 рік

Скарги: на кровоточивість та біль в яснах під час прийому їжі, припухлість ясен, загальне нездужання.

Розвиток захворювання. Вважає себе хворим протягом останніх 9-10 років. За допомогою до стоматолога не звертався. Лікування проводилось самостійно, застосовував настоянки кори дуба, ромашки.

Відмічається кровоточивість ясен. Два тижні тому переніс простудне захворювання. Кровоточивість ясен під час чищення зубів посилилась, з'явився біль в яснах. Боячись погіршити стан ясен, пацієнт перестав чистити зуби, а лише споліскував настоянкою лікарських рослин.

Об'єктивно. Слизова оболонка ясен у ділянці фронтальних зубів набрякла з яскраво-червоного кольору, відмічається деяка кровоточивість, ясенні сосочки легко відділяються від зубів. На всіх зубах виявлена значна кількість м'якого зубного нальоту. На язикових поверхнях нижніх фронтальних зубів відкладення зубного каменю у помірній кількості. Патологічна рухомість нижніх фронтальних зубів II ступеня. При зондуванні виявлені пародонтальні кишені в ділянці нижніх фронтальних зубів глибиною 3-5 мм. Виділення з пародонтальних кишень в незначній кількості серозного характеру. Шийки зубів оголені на 0,3-0,4 мм. Інші ділянки слизової оболонки порожнини рота без патологічних змін. Прикус ортогнатичний.

При індексній оцінці стану пародонта виявлено:

Індекс РМА=57,14% (тяжке запалення)

Індекс ОНІ-S=2,33 (високе значення, незадовільна гігієна)

Індекс РВІ=2,03 (тяжке запалення).

Рентгенографія: руйнування кортикальної пластинки, дифузний остеопороз, розширення періодонтальних щілин. Резорбція міжзубних перетинок до 1/2 довжини кореня. Визначаються кісткові кармани 44,43,42,41,31,32,33,34,35.

Діагноз: генералізований пародонтит, II ступінь, загострений перебіг.



Рис.4.12. Тасенюк І.М., до лікування. Д-з: генералізований пародонтит, II ступінь, загострений перебіг. Ясенні сосочки набряклі, яскраво-червоного кольору. Шийки зубів оголені. Помірні відкладення зубного каменю на язиковій поверхні нижніх фронтальних зубів. Виділення з пародонтальних кишень серозного характеру

Дата: 30.03.2014 рік (через місяць)

Кровоточивість та біль в яснах відсутні. Стан задовільний.

Об'єктивно. Слизова оболонка ясен у ділянці фронтальних зубів рожевого кольору, щільна, ясенні сосочки злегка гіперемовані, відмічається точкова кровоточивість. Запах з порожнини рота відсутній.

Проведений контроль гігієни порожнини рота.

Індекс РМА=5,95% (легке запалення)

Індекс ОНІ-S=0,16 (низьке значення, добра гігієна)

Індекс РВІ=0,10 (легке запалення)

Дані рекомендації по гігієні порожнини рота, антисептичній обробці ясен.



Рис. 4.13. Тасенюк І.М., через місяць. Ясена рожевого кольору, щільні, ясенні сосочки злегка гіперемовані, відмічається точкова кровоточивість.

Дата: 08.04.2015 рік (через 12 місяців)

Стан задовільний. Кровоточивість та біль в яснах відсутні.

Об'єктивно. Слизова оболонка ясен у ділянці фронтальних зубів рожевого кольору, щільна, ясенні сосочки злегка гіперемовані, відмічається точкова кровоточивість. Запах з порожнини рота відсутній. Наявність незначної кількості м'якого нальоту, на язикових поверхнях нижніх фронтальних зубів зубні відкладення в незначній кількості.

Проведений контроль гігієни порожнини рота.

Індекс РМА=15,47% (легке запалення)

Індекс ОНІ-S=0,50 (низьке значення, добра гігієна)

Індекс РВІ=0,25 (легке запалення)

Дані рекомендації по гігієні порожнини рота, антисептичній обробці ясен.

Рекомендовано раз на пів року з'являтися на профілактичний огляд до стоматолога з метою проведення професійної гігієни порожнини рота та лікування зубів при необхідності.



Рис. 4.14. Тасенюк І.М., через 12 місяців після лікування. Слизова оболонка ясен рожевого кольору, щільна, ясенні сосочки злегка гіперемовані, відмічається точкова кровоточивість. Наявність незначної кількості м'якого нальоту, на язикових поверхнях нижніх фронтальних зубів зубні відкладення в незначній кількості

Таким чином, проведені нами дослідження в клініці підтвердили результати, отримані в експерименті і дають усі підстави рекомендувати використання фітогелю «Нанозолото» в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит. На його використання отримано дозвіл Міністерства охорони здоров'я України (РЦ У 20.4-13903778-032/3:2013. Гігієнічний висновок № 05.03.02-07/5292 від 28.01.2014 р.). Випускається фітогель «Нанозолото» за ТУ У 20.4-13903778-032:2012 НВА «Одеська біотехнологія».

Результати, висвітлені у цьому розділі, опубліковані в наступних наукових працях автора:

1. Антоненко М. Б. Лечебное действие орального фитогеля «Нанозолото» при хроническом генерализованом пародонтите / М. Б. Антоненко, О. Б. Ткач Вісник стоматології – 2014. - №4. – С. 1-4.

Рис. 4.7 Динаміка індексу РМА у хворих не генералізований пародонтит у віддалені терміни спостережень

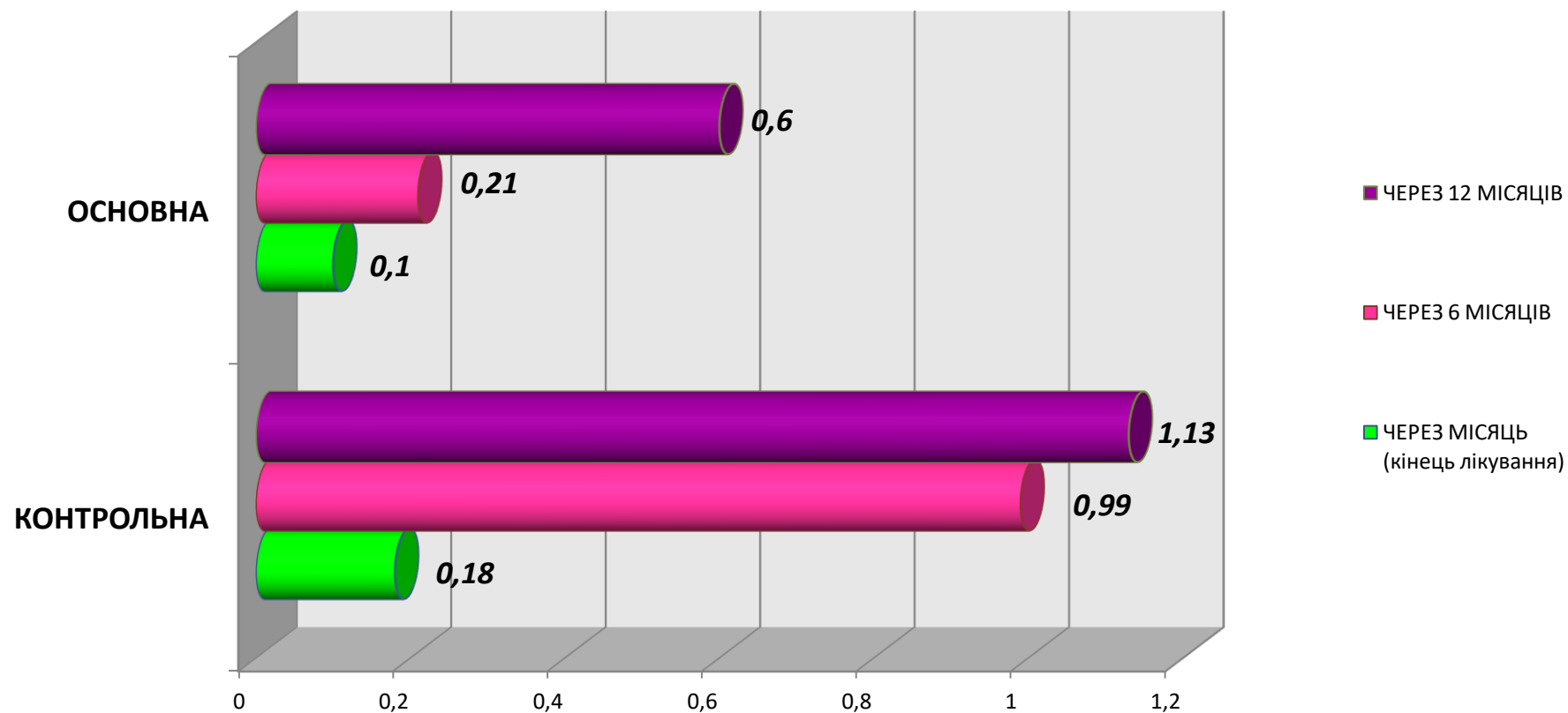


Рис. 4.8 Динаміка індексу ОНІ-S у хворих не генералізований пародонтит у віддалені терміни спостережень

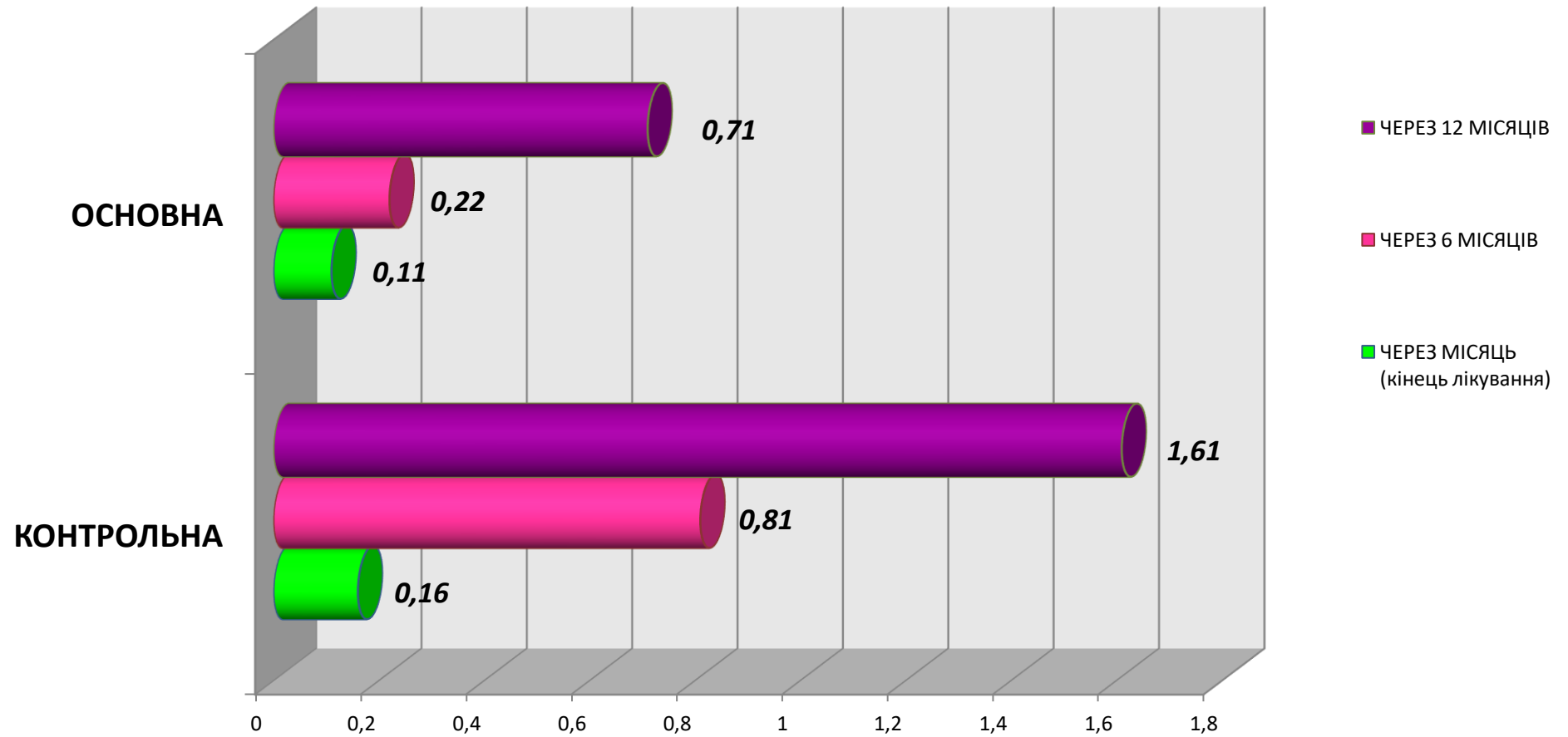
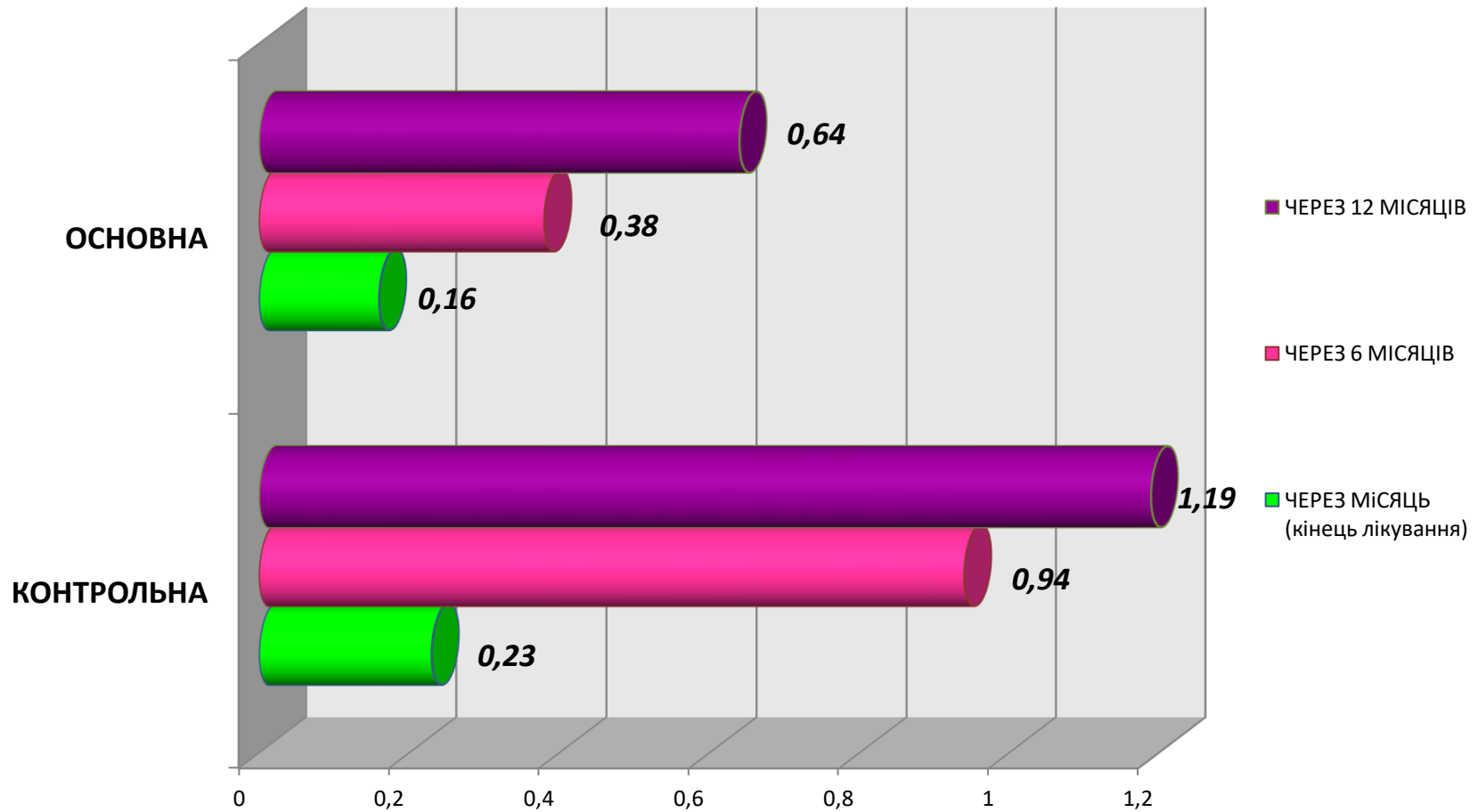


Рис. 4.9 Динаміка індексу РВІ у хворих не генералізований пародонтит у віддалені терміни спостережень



РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Захворювання пародонту, а саме – генералізований пародонти, в структурі стоматологічних захворювань займають одне з провідних місць. Головні принципи та підходи в лікуванні генералізованого пародонтиту визначаються багаточисельністю факторів патогенезу. Тому пошуки патогенетично направлених методів лікування не припиняється. Відомо, що головне місце у розвитку запальних процесів в пародонті відводиться мікрофлорі (продукти життєдіяльності мікроорганізмів, токсини, ферменти), яка має не тільки пряму руйнуючу дію на тканини, але і опосередковано ініціює ендогенні механізми. Але, розвиток запального захворювання залежить не тільки від присутності патогенної мікрофлори, а також від середовища, яке сприяє їх розмноженню (локальна зміна рН, анаеробної ніші, зміни резистентності організму).

Велика кількість різноманітних препаратів для лікування захворювань пародонта (як запальних, так і дистрофічно-запальних) свідчить, як про складність захворювання, яке лікують, так і, можливо, про недостатню ефективність медикаментозних препаратів.

Особливе і важливе місце у комплексному медикаментозному лікуванні захворювань пародонта займають антибактеріальні препарати. Незважаючи на великий арсенал цих препаратів, умовно-патогенна (пародонтопатогенна) мікрофлора швидко звикає до антибактеріального препарату і, тим самим, втрачається його клінічна ефективність. Це спонукає до розробки та створення нових, більш ефективних антибактеріальних препаратів, до яких би менше звикала мікрофлора. Аналіз літератури показав перспективність застосування з цією метою різноманітних нанопрепаратів і нанотехнологій. Зокрема з точки зору антибактеріальної дії звертають на себе увагу нанопрепарати золота і срібла. Вони набули широкого застосування у різних галузях медицини і недостатньо у стоматології. Тому виникла цікавість вивчення можливостей

застосування нанопрепаратів золота і срібла у стоматології, зокрема для лікування захворювань пародонта.

В дослідженні нами було використано високодисперсні силікагелі, що містять на своїй поверхні нанорозмірні кластери золота і срібла (9 зразків досліджуваного матеріалу), референтні тестові штами мікроорганізмів отримані з музею живих культур лабораторії загальної мікробіології інституту Київського НДІ епідеміології і інфекційних хвороб АМН України (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*). Для визначення антибактеріальної дії досліджуваних зразків силікагелей був використаний метод дифузії в агар.

Високодисперсні силікагелі, містять на своїй поверхні нанорозмірні кластери благородних металів. В якості висхідного силікагелю використовували продукт фірми Merck однорідного фракційного складу, с розміром частинок 0,1-0,2мм, питомою поверхнею $\sim 340\text{м}^2/\text{г}$, середнім діаметром пор 12нм, який попередньо прожарювали при 400°C для видалення адсорбованої води. Методики створення таких матеріалів з заданою поверхневою концентрацією (50-400 мкг/г силікагеля) і розміром наночастинок благородних металів та високою однорідністю розподілу на поверхні кремнеземів розроблені на кафедрі неорганічної хімії хімічного факультету Київського національного університету ім. Тараса Шевченка.

Вони прожарювалися при температурі 600°C при якій з силікагеля вигоряють всі органічні речовини. Силікагель, прожарений при 800°C незворотно втрачає здатність поглинати вологу (стає гідрофобним), тому виник інтерес зіставити біологічну активність зразків, прожарених при 600°C , з такими ж зразками, прожареними при 800°C .

У роботі також була досліджена змішана мікрофлора, виділена з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит та мікрофлора, виділена із зубних каналів хворих з різними патологічними процесами: хронічний гранулюючий періодонтит; кістогранульома; хронічний гранулюючий періодонтит (раніше лікований). Для цього стерильну турунду

уводили у кореневий канал, просочували його вмістом, виймали і поміщали в поживне середовище.

Для отримання вмісту пародонтальних кишень, стерильний паперовий штифт (розмір № 25), стерильним пінцетом вносили у пародонтальну кишеню і протягом 7-10 секунд просочували штифт вмістом патологічного вогнища. Перед забором матеріалу поверхню зуба очищали від нальоту за допомогою стерильної ватної кульки. Досліджувані об'єкти вносили в пробірку з поживним середовищем Brain Heart Infusion Broth. Антибактеріальну активність матеріалів визначали за розміром (у мм) діаметра зон затримки росту мікроорганізмів навколо кожного зразка (Тетеріна Л.Н., 1997). Кожен з експериментів для статистичної достовірності повторювали 7-8 разів. Визначали середнє арифметичне значення для кожної із досліджуваних груп антибактеріальних препаратів.

Було виявлено, що практично всі зразки силікагелів, в тій чи іншій мірі справляють антимікробну дію, як на мікробну флору пародонтальних кишень та кореневого каналу при різних запальних процесах в них, так і на референтні тестові штами мікроорганізмів. Необхідно відмітити відсутність достовірної різниці в діаметрах зон затримки зростання мікроорганізмів в зразках з різними розмірами наночастинок металів. Це дає підставу для клінічного використання силікагелів із сорбованими наночастками золота різного розміру і концентрації для лікування запальних процесів в періодонті та пародонті.

Порівняльне вивчення протимікробної активності силікагелю з наночастинками золота та антисептиків різних груп (умкалор 1,2%; хлоргексидин 0,05%; етоній 0,5%; мірамистин 0,01%; хлорофіліпт 1%) відносно тест-мікроорганізмів та змішаної мікрофлори з вогнищ запалення тканин пародонта проводили методом дифузії антибактеріального засобу в агар.

При проведенні порівняння не було виявлено відмінності середнього значення діаметру для Au від значень отриманих для інших досліджуваних препаратів ($p > 0,05$).

Результати порівняльного аналізу антимікробної активності високодисперсного силікагелю з наночастками золота з іншими препаратами з антимікробною дією, довели, що досліджуваний препарат може стати в ряд з іншими антисептиками, які використовують при лікуванні хворих на генералізований пародонтит і є препаратом вибору.

Це спонукало до створення мукозального гелю «Нанозолото». Наночастинки золота суттєво підвищують антидисбіотичну, протизапальну і антиоксидантну дію препарату лізомикуїд по відношенню до тканин пародонту і слизової оболонки порожнини рота. Вибір нанозолота зроблений з тієї причини, що саме наночастинки золота найбільшою мірою відновлювали активність лізоциму, знижену при дії ЛПС.

Доклінічні дослідження лікувальної дії мукозального гелю «Нанозолото» проводились на експериментальній моделі пародонтита а саме - протаміновій моделі, яка обрана в зв'язку з тим, що протамін, як інгібітор гепарину, активує гіалуронідазу, яка підвищує проникність гістогематичних бар'єрів і є протизапальним фактором. Протаміновий пародонтит відтворювали у щурів шляхом триденного нанесення на ясна по 0,5мл гелю КМЦ, що містить 10% розчину протаміну сульфату в концентрації 10мг/мл. Експерименти були проведені на 35 білих щурах лінії Вістар розподілених на 5 рівних груп: перша - норма, друга - пародонтит (без лікування), третя - пародонтит + «порожній» гель, починаючи з 5 дня дослідження протягом 5 днів, четверта - пародонтит + гель, що містить 5% силікагелю і п'ята - пародонтит + гель з наночастинками золота. Усі лікувальні гелі наносили на ясна в кількості 0,5мл один раз в день після їжі протягом 5 днів.

В гомогенатах ясен (20 мг/мл 0,05 М трис-НСl буфера, рН 7,5) визначали активність уреаз, лізоцима, еластази, каталази, вміст малонового диальдегіда (МДА) та концентрацію гіалуронової кислоти. По співвідношенню активності каталази та вмісту МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ, а за співвідношенням відносних активностей уреаз та лізоцима розраховували ступінь дисбіозу за Левицьким. В гомогенаті кісткової тканини

коміркового паростку визначали активність лужної (ЛФ) та кислої (КФ) фосфатаз. По співвідношенню ЛФ/КФ розраховували індекс мінералізуючої здатності кісткової тканини пародонта (ІМ).

При моделюванні пародонтиту активність уреазы збільшується в 1,7 раз (хоча $p > 0,05$), що свідчить про збільшення мікробного обмінення ясен. Аплікації гелю з нанозолотом знижують цей показник в 1,5 рази. Активність лізоциму в яснах щурів з пародонтитом знижується в 1,9 рази, тоді як у щурів, які отримували аплікації гелей з силікагелем або з нанозолотом, активність лізоциму знижується лише в 1,2 рази.

Розрахована за цими показниками ступінь дизбіозу ясен у щурів з пародонтитом збільшується більш ніж в 3 рази та достовірно знижується після аплікацій гелей з силікагелем, а особливо з нанозолотом. В останньому випадку ступінь дизбіозу ясен знижується майже до норми.

Визначення рівня маркерів запалення – активність еластази та вміст МДА, показало, що при пародонтиті збільшується рівень обох маркерів, що свідчить про початок запалення в яснах (гінгівіт). Аплікації гелю з сорбентом та гелю з нанозолотом знижують рівень еластази (однак, $p > 0,05$).

Результати визначення активності каталази та індексу АПІ в яснах щурів з експериментальним пародонтитом показали, що активність каталази при пародонтиті знижується, а під впливом мукозальних гелей дещо збільшується, однак через великі межі даних p у всіх випадках більше 0,05. Індекс АПІ при пародонтиті достовірно знижується, але аплікації гелей з силікагелем або з нанозолотом практично його не змінюють.

Ступінь атрофії коміркового відростка нижньої щелепи щурів з експериментальним пародонтитом достовірно зростає, а під впливом аплікацій гелем з силікагелем або з нанозолотом ступінь атрофії кісткової тканини достовірно знижується, а саме, після аплікацій гелю з нанозолотом – до норми.

При визначенні в кістковій тканині пародонта активності фосфатаз та індексу мінералізації (ІМ) отримані результати, які вказують на достовірне зниження лише індексу ІМ, причому аплікації гелей навіть дещо погіршують

стан мінералізації. Однак, якщо індекс мінералізації порівняти з аналогічним показником 3-й групи (група порівняння), то гель з нанозолотом достовірно збільшує мінералізуючу здатність кісткової тканини пародонту, головним чином, за рахунок росту активності ЛФ, яка є маркером остеобластів.

Узагальнюючи, можна зробити наступні висновки:

1. Моделювання пародонтиту за допомогою протаміну збільшує ступінь дизбіозу ясен за рахунок збільшення мікробного обсеменіння та зниження рівня неспецифічного імунітету.

2. Розвиток дизбіозу в яснах знижує вміст гіалуронової кислоти та збільшує ступінь атрофії коміркового паростка.

3. Аплікації на ясна гелю з нанозолотом знижують ступінь дизбіозу, збільшують вміст гіалуронової кислоти та нормалізують показники атрофії коміркового паростка.

Доклінічні дослідження мукозального гелю «Нанозолото» показали його виражений терапевтичний ефект при експериментальному пародонтиті, внаслідок наявності у нього антибактеріальних, антидисбіотичних, протизапальних, антиоксидантних властивостей

Для вивчення властивостей мукозального гелю було проведено вивчення гострої та хронічної токсичності гелю при нанесенні на шкіру; оцінка гострої та хронічної токсичності гелю при введенні в шлунок; оцінка шкірно-подразнювальної дії; оцінка подразнювальної дії гелю на слизову оболонку порожнини рота; оцінка сенсibiliзуювальної дії.

Дослідження гострої токсичності проводили на статевозрілих тваринах (білі щури віком 2,5-3 місяців) обох статей масою 150-190 г. На бічній поверхні тварин голили шерсть площею 4см², втирали зразки досліджуваного мукозального гелю «Нанозолото» з розрахунку 2500 мг / кг маси тварини. Контрольній групі тварин втирали фізіологічний розчин. Спостереження за тваринами проводили протягом 14-ти діб. Протягом усього терміну спостереження жодна піддослідна тварина не загинула, ознак інтоксикації не

відмічали, що говорить про відсутність токсичної дії мукозального гелю «Нанозолото».

При дослідження підгострої токсичності при нанесенні на шкіру мукозального гелю «Нанозолото» білим щурам (вік 2 місяці, маса тіла 150-170 г), протягом місяця втирали гель в поголені ділянки шкіри (щоденна доза - 300 мг/кг). Спостереження проводили під час усього експерименту, а також протягом тижня після закінчення експерименту. Контрольним тваринам в шкіру втирали фізіологічний розчин. В усіх групах у тварин не спостерігали будь-яких відхилень від норми в поведінці і фізіологічному стані.

Дослідження гострої токсичності мукозального гелю «Нанозолото» при введенні в шлунок провели на 40 лабораторних мишах 3-х місячного віку масою 20 г. Препарат вводили тваринам внутрішньошлунково одноразово за допомогою орального зонда в дозі 0,3 мл/тварину в наступних концентраціях, мг/кг: 10000, 5000, 2000. Кожну дозу досліджували на 5 тваринах. Контрольній групі внутрішньошлунково вводили воду. Миші не отримували їжу протягом ночі, що передувала випробуванню, і протягом 3-х годин після введення препарату. Спостереження за тваринами проводили протягом наступних 14 днів. Отриманні результати показали, що введення в шлунок гелю не викликає помітних змін у поведінці мишей. Всі тварини залишилися живі. Індекс гострої токсичності становить 1 бал.

При вивченні підгострої токсичності білим щурам (вік 2-2,5 місяця, самки і самці порівну). вводили гель «Нанозолото» щодня натще внутрішньошлунково у вигляді водного розчину в дозі 0,5 мл / тварину, контрольна група щурів отримувала внутрішньошлунково воду. Тривалість експерименту складала 60 днів. Візуальне спостереження за щурами протягом експерименту не виявило відхилень від нормального фізіологічного стану: поведінкові реакції, стан шерсті, шкіри, слизових оболонок залишалися при цьому нормальними. Результати показали відсутність змін у прирості маси тіла, маси підшлункової залози і під'язикових слинних залоз.

Результати досліджень складу периферійної крові при введенні мукозального гелю «Нанозолото» свідчать про те, що досліджуваний препарат при тривалому введенні не здійснює негативного впливу на гематологічні показники.

Відсутність токсичної дії при тривалому введенні мукозального гелю «Нанозолото» оцінювали за вмістом білка і активності деяких тканеспецифічних ферментів у сироватці крові. Отриманні результати також не показали відхилень від норми.

Дослідження нешкідливості гелю «Нанозолото» було доповнено макроскопічним оглядом внутрішніх органів тварин. У піддослідних щурів не було виявлено будь-яких відхилень від норми.

На завершальному етапі було проведено морфологічне вивчення життєво-важливих органів щурів: печінки, нирок, селезінки, серця, легенів, шлунка. Дослідження показали, що гель не має токсичної дії на тканини досліджуваних органів.

Таким чином, в результаті проведених токсикологічних досліджень було доведено, що мукозальний гель «Нанозолото» не зсправляє токсичного впливу при багаторазовому введенні на структуру і функцію життєво важливих органів і є практично нешкідливим.

Оцінку стану шкіри визначали.

В результаті досліджень шкірно-подразнювальної дії, яку визначали на 10-й, 20-й і 30-й день дослідження, після попереднього втирання досліджуваного зразку гелю розведеного водою 1:10 в поголені ділянки шкіри білих щурів з метою визначенням ступеню запальної реакції (еритема, набряк), було виявлено, що індекс шкірно-подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото» склав 0 балів – що вказує на відсутність шкірно-подразнювальної дії.

Вивчення подразнювальної дії мукозального гелю «Нанозолото» на слизову оболонку порожнини рота щурів з метою визначення можливої подразнювальної дії досліджуваного препарату проводили на 18 статевозрілих

щурах, (по 9 голів у кожній групі) шляхом обробки порожнини рота гелем, розведеним водою 1:10, 4 рази на день протягом 4-х діб. Контрольній групі тварин порожнину рота обробляли фізіологічним розчином. Спостерігали тварин протягом 7 днів (4 дні дослідження і 3 дні після закінчення обробки порожнини рота). При цьому визначали ступінь подразнення слизової оболонки порожнини рота і слизової в ділянці з'єднання губ за спеціальною оціночною шкалою (від 1 до 3 балів). Коефіцієнт подразнення підраховували шляхом підсумовування середнього групового балу за двома показниками (слизова рота і з'єднання губ), ділили його на кількість днів спостереження.

Результати показали, що гель «Нанозолото» не здійснює подразнювальної дії на слизову оболонку порожнини рота - коефіцієнт подразнення не перевищує 0,4 бали.

Вивчення сенсibiliзувальної дії гелю проводили шляхом відтворення локальних реакцій (дослідження проводили на білих щурах, віком 2,5 місяця).

Для цього гель розведений стерильною водою 1:10, вводили один раз на підслизовий шар порожнини рота в кількості 0,2 мл (контрольним тваринам в тому ж обсязі вводили стерильний фізіологічний розчин). На 12-у добу на поголеній ділянці розміром 1,5 см² на бічній поверхні тулуба проводили аплікації досліджуваного препарату шляхом втирання його в поверхню шкіри. Індекс сенсibiliзувальної дії гелю «Нанозолото» в результаті був менше одиниці, що свідчить про відсутність сенсibiliзувальної дії у цього препарату.

Проведені нами дослідження підтвердили протизапальні та антиоксидантні властивості вже відомого препарату Лізомукоїд, які можна значно підсилити за допомогою гелів, що містять наночастинки золота або срібла.

Враховуючи, що патогенетичною основою розвитку запально-дистрофічних захворювань пародонту є оральний дисбіоз, було проведено вивчення антидисбіотичної дії мукозальних гелей, що містять наночастинки золота або срібла на силікагелевому сорбенті на пародонт. Для цього викликали дисбіоз у щурів шляхом аплікації на ясна 0,5мл гелю, що містить ліпополісахарид (токсин, що утворюється пародонтопатогенними мікробами

який в значній мірі впливає на розвиток запально-дистрофічних процесів в пародонті) із *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал» виробництва «Медгамал», Росія), в дозі 75 мкг/кг живої маси на термін 24 години. За 2 дні до цього на ясна наносили гелі, що містять наночастинки Au або Ag, в кількості 0,5мл на крису. Аплікації на ясна гелю з ЛПС викликають більш ніж 3-кратне збільшення активності уреаз (2,35 ± 0,13) при нормі - 0,72 ± 0,10, що свідчить про значний ріст мікробного обсіменіння ясен. Попередні аплікації на ясна гелю з Лізомукоїдом достовірно знижують активність уреаз (1,54 ± 0,08), яка ще більше знижується при поєднанні Лізомукоїда з силікагелями, що містять наночастинки золота або срібла. Доречі, найбільш ефективним виявилось сполучення із силікагелем, що містить Au (5 мкм, 400 мкг/г) - 1,45 ± 0,10.

При дії ЛПС активність лизоциму (норма - 310 ± 48), навпроти, знижується (209 ± 20), що свідчить про послаблення неспецифічного імунітету. Аплікації гелю з ЛМ дещо збільшують активність лизоциму (227 ± 37), а сполучення ЛМ із силікагелями що містять Au или Ag, збільшують активність ще більше, особливо, силікагель, що містить наночастинки золота (5 нм, 500 мкг/г) - 279 ± 17.

Таким чином, проведені дослідження показали, що запропоновані нами комплексні мукозальні гелі, що містять сорбенти з наночастинками золота або срібла, мають антидизбіотичний ефект при токсичній дії ЛПС, і найбільш ефективним виявився гель, що містить наночастинки золота розміром 5 нм.

З метою вивчення протизапальної та антиоксидантної дії гелів, які містять наночастинки золота або срібла на тканини порожнини рота щурів, було проведено визначення в яснах рівня біохімічних маркерів запалення (еластази - 41 ± 6 та малонового діальдегіду –МДА - 41 ± 6). Отриманні результати вказують на те, що ЛПС достовірно підвищує і активність еластази (69 ± 2), і концентрацію МДА (21,3 ± 1,9). Аплікації гелю, що містить Лізомукоїд, зменшують в незначній мірі рівень цих маркерів (66 ± 11 та 19,7 ± 1,6 відповідно), тоді як включення до складу гелів кремнезема з наночастинками

золота або срібла значно підсилює протизапальні властивості Лізомукоїду, особливо по відношенню еластази (Au - 61 ± 4 та Ag - 57 ± 6).

При дії ЛПС активність антиоксидантного ферменту каталази (норма $7,85 \pm 0,42$), на відміну від біохімічних маркерів запалення, знижується ($6,03 \pm 0,22$). Аплікації гелю з Лізомукоїдом дещо збільшують активність каталази ($6,14 \pm 0,87$), однак в обох випадках $p > 0,05$. Включення до складу гелю з Лізомукоїдом наночастинок Au або Ag, адсорбованих на кремнеземі, значно збільшує активність каталази в обох тканинах (Au - $7,83 \pm 0,40$ та Ag - $8,58 \pm 0,14$), в усіх випадках $p < 0,05$.

Доклінічні дослідження мукозального гелю «Нанозолото» показали його виражений терапевтичний ефект при експериментальному пародонтиті, внаслідок наявності у нього антибактеріальних, антидисбіотичних, протизапальних, антиоксидантних властивостей

Грунтуючись на отриманих результатах, було проведено клінічні дослідження пародонтопротекторних ефектів мукозального гелю «Нанозолото» як патогенетично обґрунтованого медикаментозного засобу для місцевого застосування у хворих на генералізований пародонтит.

Клінічну оцінку ефективності лікування проводили на групах хворих генералізованим пародонтитом I ступеня, хронічного та загостреного перебігу. Постановку діагнозу здійснювали відповідно до систематики захворювань пародонта М.Ф. Данилевського (1994).

Загалом, в клініці було обстежено 79 хворих на генералізований пародонтит I ступеня хронічного та загостреного перебігу, яких було поділено на 2 групи: групу порівняння (39 хворих) і основну групу (40 хворих). Пацієнти основної групи додатково до базового лікування отримували оральні аплікації фітогелю «Нанозолото». В контрольній групі в якості терапії використовували гель «Метрогіл дента».

Пародонтологічний статус пацієнтів визначали за наступними індексами: РМА, ОНІ-S та індексу кровоточивості РВІ.

Результати визначення дентальних індексів у хворих на пародонти показали, що базове лікування знижує їх на 53 % (ОHI-S), 20 % (РМА), тоді як в основній групі на 82 %, 100 % відповідно. Застосування гелю «Нанозолото» приводило до зменшення кровоточивості ясен у пацієнтів основної групи в середньому з $2,92 \pm 0,09$ до $0,76 \pm 0,04$, в групі порівняння зниження менш виражене - в середньому з $2,74 \pm 0,11$ до $1,25 \pm 0,14$.

Таким чином, клінічна ефективність запропонованих лікувально-гігієнічних заходів із застосуванням мукозального гелю «Нанозолото» в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту I ступеня хронічного та загостреного перебігу підтверджується як клініко-рентгенологічними показниками, так і результатами індексної оцінки стану тканин пародонта.

Грунтуючись на отриманих клініко-рентгенологічних даних, результатах індексної оцінки стану пародонта можна зробити висновок: розроблений комплекс лікувально-гігієнічних заходів виявився високоефективним в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту I ступеня хронічного та загостреного перебігу.

Найближчі результати лікування виявилися ефективними у 100% пацієнтів обох груп. Тривалість курсу лікування при цьому, у пацієнтів контрольної групи на 20% довше а ніж в основній групі. Крім того, запропонована методика лікування дозволила досягнути більш стабільних результатів протизапальної, антигеморагічної дії в основній групі на відміну від контрольної, де зберігався ризик розвитку запального процесу.

Вже на 1-2 сеанс лікування виявлялась протизапальна дія, а на 4-5 сеанс клінічні результати оцінювали як позитивні. Індeksi які характеризують інтенсивність запального процесу в тканинах пародонту достовірно змінювалися на етапах лікування, наближаючись до нормальних значень.

Аналіз отриманих результатів підтверджує високу ефективність мукозального гелю «Нанозолото», що пояснюється тривалим перебуванням гелю в порожнині рота, що забезпечує пролонговану дію на тканини пародонту.

Віддалені результати лікування через (6 місяців) проконтрольовані у 79 пацієнтів. Рентгенологічно у хворих з I ступеня захворювання стабілізація патологічного процесу відмічена у 97,5% пацієнтів основної та 33 (84,61%) контрольної групи.

Індексна оцінка стану тканин пародонту, показала, що при генералізованому пародонтиті I ступеня збільшення середнього значення індексу РМА в основній групі було на 0,11 бала, а в контрольній на 0,30 балів. Тобто, швидкість погіршення стану тканин пародонту в контрольній групі в три рази вище, а ніж в основній. Аналогічні зміни відмічені при аналізі змін гігієни порожнини рота, індексу кровотечі.

Пацієнтам, з благополучною клінічною картиною, рентгенологічною стабілізацією процесу в комірковій кістці, показниками індексу РМА до 0,47 балів – проводили лише контроль гігієни порожнини рота, консультацію з питань гігієни, харчування та відносно загального стану організму.

Пацієнтам у яких були скарги на періодичну кровоточивість, свербіж в яснах; у яких в наявності обмежений маргінальний гінгівіт, стабілізація дистрофічно-запального процесу в комірковій кістці, значення індексу РМА в межах від 0,47 до 0,84 бали – призначався курс превентивного лікування. Цей курс включав: 1) контроль та корекцію індивідуальної гігієни порожнини рота; 2) проведення професійної гігієни порожнини рота; 3) накладання мукозального гелю «Нанозолото» 2-3 сеанси (для основної групи); 4) вітамінотерапія.

Пацієнтам з вираженими ознаками загострення генералізованого пародонтиту та показниками індексу РМА більше 0,84 бали – призначалося комплексне лікування генералізованого пародонтиту в повному обсязі.

Таким чином, розроблена методика лікування генералізованого пародонтиту з використанням мукозального гелю «Нанозолото» дозволила досягти стійкої стабілізації дистрофічно-запального процесу в тканинах пародонту у віддалені терміни: 78% пацієнтів основної групи не потребували

лікування, а в контрольній групі цей показник гірше в 5 разів, а 43% пацієнтів цієї групи вже потребували комплексної терапії у повному обсязі.

Проведені експериментальні та клінічні дослідження по вивченню пародонтопротекторних властивостей мукозального гелю «Нанозолото», дозволяють стверджувати, що висока терапевтична ефективність у хворих генералізованим пародонтитом обумовлена протизапальною, антиоксидантною, антимікробною дією на тканини пародонту.

Вищезазначене дозволяє рекомендувати розроблений нами мукозальний гель «Нанозолото» для використання в якості патогенетично обґрунтованого медикаментозного засобу для профілактики та лікування запальних та дистрофічно-запальних захворювань пародонта.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної науково-практичної задачі сучасної стоматології – підвищення ефективності лікування захворювань пародонта шляхом експериментального обґрунтування використання наночасточок срібла і золота для лікування захворювань пародонта і розробки можливих форм медикаментозних препаратів, що містять дані наночасточки металів.

1. Проведеними експериментальними та клінічними дослідженнями обґрунтована рецептура мукозо-адгезивного гелю «Нанозолото» (дозвіл Міністерства охорони здоров'я України (РЦ У 20.4-13903778-032/3:2013. Гігієнічний висновок № 05.03.02-07/5292 від 28.01.2014 р.) виробник «Одеська біотехнологія» за ТУ У 20.4-13903778-032:2012 НВА), який рекомендується для застосування у комплексному лікуванні хворих із захворюваннями пародонта.

2. Експериментальними дослідженнями на лабораторних тваринах показана практична відсутність у мукозо-адгезивного гелю «Нанозолото» гострої та хронічної токсичності, негативного впливу на гематологічні показники, відсутність токсичної дії при тривалому введенні, нешкідливість

гелю, відсутність шкірно-подразнювальної дії, сенсibilізувальної дії, морфологічних змін внутрішніх органів. Це свідчить, що мукозальний гель «Нанозолото» при багаторазовому введенні не справляє токсичного впливу на структуру і функцію життєво важливих органів і є практично нешкідливим.

3. Мікробіологічними дослідженнями показано, що всі зразки силікагелей з наночастинками срібла і золота мають виражену антибактеріальну активність, як на референтні тестові штами мікроорганізмів, так і на змішану мікробну флору корневих каналів та пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит. Порівняльні мікробіологічні дослідження показали, що антимікробна дія мукозо-адгезивного гелю «Нанозолото» порівняна з дією таких антибактеріальних препаратів порівняння, як 0,5 % розчин етонію, 0,01 % розчин мірамістину, 1 % розчин хлорофіліпту, поступаючись 1,2 % розчину умкалору та 0,05 % розчину хлоргексидину.

4. На підставі результатів визначення активності каталази і вмісту МДА були розраховані значення індексу АПІ. Розрахований індекс АПІ зменшується при наявності запалення в пародонті до $3,90 \pm 0,31$. Аплікації гелю з наночастинками Au або Ag значно підвищують індекс АПІ до $4,39 \pm 0,34$. Таким чином, проведені дослідження показали протизапальні та антиоксидантні властивості мукозального гелю, що містить наночастинки золота або срібла.

5. Моделювання експериментального пародонтиту підвищує активність уреаз до $0,63 \pm 0,10$ мк-кат/кг і знижує активність лізоциму до 132 ± 45 од/кг. Застосування мукозального гелю з частинками золота і срібла знижує активність уреаз до 132 ± 45 та підвищує активність лізоциму до 202 ± 57 од/кг, що свідчить про зменшення ступеня дисбіозу.

6. Аплікації мукозального гелю з частинками золота і срібла підвищують активність лужної (ЛФ) і кислої (КФ) фосфатаз відповідно до $108,9 \pm 10,1$ та $2,15 \pm 0,12$ нкат/кг та індекс мінералізації кісткової тканини щурів до $50,6 \pm 3,1$, зменшують підвищений при запаленні рівень еластази до 38 ± 3 мк-кат/кг та МДА до $16,3 \pm 0,6$ мкмоль/кг, що свідчить про протизапальну дію препарату.

7. Таким чином в умовах протамінового пародонтиту застосування мукозального гелю «Нанозолото» знижує ступінь мікробного обсіменіння, підвищує рівень неспецифічного імунітету, суттєво знижує ступінь атрофії альвеолярного відростка, збільшує вміст в яснах гіалуронової кислоти. Проведені дослідження показали, що в умовах патогенної дії ліпополісахариду аплікації мукозального гелю з наночастинками золота або срібла суттєво підвищують антидисбіотичну, протизапальну і антиоксидантну дію препарату лізомукоїду по відношенню до тканин пародонта і слизової оболонки порожнини рота.

8. Проведеними клініко-лабораторними дослідженнями показана висока ефективність застосування мукозального гелю в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит: стабілізація дистрофічно-запального процесу в пародонті відмічена у всіх 100,0% пацієнтів основної групи та 11 (91,67%) пацієнтів групи порівняння. У віддалені терміни спостережень (6 та 12 місяців) стабілізація патологічного процесу у пацієнтів основної групи відмічена відповідно у 14 (93,3%) та 14 (93,3%) пацієнтів основної групи порівняно з 10 (83,3%) та 9 (75,0%) пацієнтів групи порівняння.

9. Відмічена клінічна ефективність застосування мукозального гелю в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит переконливо підтверджена динамікою біохімічних показників: зниження активності еластази (до $0,60 \pm 0,04$ мк-кат/кг), МДА (до $0,16 \pm 0,02$ ммоль/л), уреазі ($0,023 \pm 0,010$ мк-кат/л), збільшення активності лізоциму (до 70 ± 7 од/л), що зменшує ступінь дисбіозу до $2,80 \pm 0,33$. Відмічено підвищення активності каталази (до $0,19 \pm 0,02$ мкат/л) та індексу АПІ ($11,9 \pm 1,4$), що свідчить про протизапальні та антиоксидантні властивості мукозального гелю

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для клінічного застосування експериментально обґрунтований мукозальний гель «Нанозолото», який не має гострої та хронічної токсичності, негативного впливу на гематологічні показники, відсутність токсичної дії при тривалому введенні, нешкідливість гелю, відсутність шкірно-подразнювальної дії, сенсibiliзуювальної дії, морфологічних змін внутрішніх органів.

2. На основі результатів проведених експериментальних досліджень був отриманий дозвіл Міністерства охорони здоров'я України (РЦ У 20.4-13903778-032/3:2013 на використання гелю «Нанозолото» (гігієнічний висновок № 05.03.02-07/5292 від 28.01.2014 р.). Випускається фітогель «Нанозолото» за ТУ У 20.4-13903778-032:2012 НВА «Одеська біотехнологія» у вигляді пластикових контейнерів з дозуючим пристроєм по 50 мл.

3. Застосування запропонованого гелю «Нанозолото» в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит дозволяє досягти високої ефективності лікування та продовжує період стабілізації дистрофічно-запального процесу в пародонті.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абаев З. М. Эндолимфатическая антибактериальная терапия в комплексном лечении пародонтита: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27; 14.00.21 / Абаев Зоинбек Мюратович; Московский государственный медико-стоматологический университет. – М., 2002. – 119 с.
2. Андрианов К. М. Нано и стома. Нанотехнологии добрались и до зубов // Константин Борисович Андрианов. – С.-Пб.: Коммерсант.ru / "Медицина". Приложение №86, 18.05.2009. – 19с.
3. Антонова И. Н. Роль профессиональной гигиены полости рта в профилактике и лечении хронических гингивитов : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Антонова И. Н.; Воронежская государственная медицинская академия имени Н. Н.Бурденко. - СПб., 1999. - 16 с.
4. Аппликационные методы сорбционной терапии в хирургической и стоматологической практике // Современные методы сорбционной терапии в клинической практике (практические рекомендации) / [Захараш М. П. [и др.]; под ред. проф. В. Г. Николаева. – Киев: ООО Научно-медицинский центр «МЕДА КУСТИК», 1998. – 45 с.
5. Арутюнов С. Д. Современные нанокompозиты в технологии замещения клиновидных дефектов / Арутюнов С. Д., Карпова В. М., Бейтани А. В.; Институт стоматологии, 2006. - Т.3. № 32., - С. 56-57.
6. Бадиков В. Д. Микробиологические основы антимикробной терапии инфекционных заболеваний: [Руководство для врачей] / В. Д. Бадиков. - СПб.: 2005. - 184 с.
7. Байрамов Г. Р. Исследование пародонто-патогенной микрофлоры и ее этиологическая значимость в формировании разных клинических форм

- воспалительных заболеваний пародонта / Г.Р. Байрамов // Стоматология. – 2010. - Т. 89 - № 3. - С.84-86.
8. Балин В. Н. В развитие научных взглядов проф. И. С. Рубинова и проф. А. К. Иорданишвили на патогенез и лечение болезней пародонта / В.Н. Балин, Л. В. Васильева // Terra Medica. - 2003. - № 1 (2). - С. 16-18.
 9. Барер Г. М. Терапевтическая стоматология. Учебник. Часть 2. Болезни пародонта / Г. М. Барер; под редакцией проф. Г. М. Барера. – М.: «Гэотар-Медиа», 2008. - 224 с.
 10. Барер Г. М. Рациональная фармакотерапия в стоматологии / Г. М. Барер, Е. В. Зорян. - М.: Литтер - ра, 2006. - С. 239-240.
 11. Барияк А. Я. Нанолазерна дезінфекція системи кореневого каналу зуба / А. Я. Барияк - Доповіді НАН України, 2008. – №9. – С.180-183
 12. Бачимова К. К. Разработка и клиничко-лабораторное обоснование применения стоматологической пленки «Диплен» при лечении хронического пародонтита: дис. ...д-ра мед. наук: 14.00.21; 03.00.07 / К. К. Бачимова; М., 2004. - С.32-47
 13. Безрукова А. П. Эмбриогенетическая теория развития заболеваний пародонта / А. П. Безрукова // Пародонтология. - 2000. - № 4 (20). - С. 16-18.
 14. Безрукова И. В. Микробиологические и иммунологические аспекты этиопатогенезы быстро прогрессирующего пародонтита / И. В. Безрукова // Пародонтология. - 2000. - № 3 (17). - С. 3-7.
 15. Безрукова И. В. Агрессивные формы пародонтита. / И. В. Безрукова, А. И. Грудянов– М.: МИА, 2002. – 127 с.
 16. Безрукова И. В. Классификация агрессивных форм воспалительных заболеваний пародонта / И. В. Безрукова, А. И. Грудянов // Стоматология. — 2002. — № 5. — С. 45-47.
 17. Белоусов Ю. Б. Антибактериальная химиотерапия. / Ю. Б. Белоусов, С. М. Шатунов. - М.: - Ремедиум, - 2001. – 473 с.

18. Беляков И. М. Иммуная система слизистых / И. М. Беляков // Иммунология. - 1997. - № 4. - С. 7 - 13.
19. Беляков Н. А., Энтеросорбция-механизмы лечебного действия / Н. А. Беляков, А. В. Соломенников, И. Н. Журавлева, Л. О. Соломенникова // Эфферентная терапия. С-Пб. - 1997. - Т. 3 - №2. - С. 20.
20. Бир Р. Эндодонтология. Атлас по стоматологии / Р. Бир, М. Бауманн, С. Ким - М.: МЕДпресс-информ, 2004. - 368 с.
21. Биргер Е. Нанотехнологии в стоматологии: разработан первый в мире уплотнитель для зубного канала, использующий наночастицы / Е. Биргер // NanoWeek. - 8 - 15 июня 2009. - №. 71.
22. Блохин В. П. Использование препарата "Биолан" с целью повышения эффективности комплексного лечения больных с генерализованным пародонтитом / В. П. Блохин, В. А. Дрожжина, Ю. А. Федоров, Е. В. Леонова // Пародонтология. - 2002. - №1-2 (23). - С. 17-21.
23. Бойцанюк С. І. Фармакотерапія захворювань пародонта(огляд літератури) / С. І. Бойцанюк, М. С. Залізник, О. І. Залізник // Клінічна стоматологія. – 2011. - №1-2. - С. 5-11.
24. Бойцанюк С. І. Фізіотерапевтичні методи лікування у пародонтології (огляд літератури) / С. І. Бойцанюк, М. А. Лучинський, В. В. Сопотницька // Клінічна стоматологія. – 2011. - №1-2. - С.19-23.
25. Борисенко А. В. Новые возможности коррекции иммунных нарушений при заболеваниях пародонта и СОПР / А. В. Борисенко // Современная стоматология (Киев) – 2011. - N 1. - с.21-22.
26. Борисенко А. В. Секреты терапевтической стоматологии. Заболевания пародонта (учебное пособие) / А. В. Борисенко // Киев ВСИ «МЕДИЦИНА» - 2013. - С. 455.
27. Борисенко Л. Г. Профилактика стоматологических заболеваний на этапе первичной медико-санитарной помощи населению / Л. Г. Борисенко, П. А. Леус // Здравоохр. – 2005. – № 4. – С. 39–41.

28. Борисенко А. В. Значення загальноадаптивних реакцій організму при захворюваннях пародонту / А. В. Борисенко, Н. А. Дземан, Г. Л. Леснухіна, О. І. Мариніна // МАТЕРІАЛИ ЮВІЛЕЙНОЇ ІV МІЖНАРОДНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ КРАЇН СНД «СТОМАТОЛОГІЧНЕ ЗДОРОВ'Я. ЗАГАЛЬНОСОМАТИЧНИЙ СТАТУС ЛЮДИНИ» Київ, матеріали конференції - 2011. - С. 147 – 148.
29. Борисенко А. В. Взаимосвязь микрофлоры пародонтальных карманов с течением генерализованного пародонтита у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / А. В. Борисенко Ю. Г. Коленко, О. В. Линовицкая // Современная стоматология. - 2002.- С.39-42.
30. Борисенко А. В. Порівняльне вивчення протимікробної активності дії Умкалору на мікрофлору корневих каналів зубів / А. В. Борисенко, О. Ф. Несін, Л. З. Гаврилова // Современная стоматология Научно-практический стоматологический журнал. - 2009. - N 2. - С. 17-20.
31. Борисенко А. В. Влияние оральных аппликаций силикагеля, содержащего наночастицы золота или серебра на степень дисбиоза десны крыс после воздействия липополисахарида // А. В. Борисенко, О. Б. Ткач, А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2013. – № 3 (84). – С. 2-4.
32. Борисенко, А. В. Индексная оценка интенсивности воспалительных и деструктивных изменений в тканях пародонта при генерализованном пародонтите / А. В. Борисенко, А. Г. Ткаченко // Современная стоматология. - 2005. - № 1. - С.64-65.
33. Терапевтическая стоматология / Боровский Е. В. [и др.] - М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2004. – 840 с.
34. Боярова С. К. Особенности течения и совершенствование метода лечения хронического генерализованного пародонтита у больныхпожилого и старческого возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.52 / Боярова С. К.; Санкт-Петербургский институт

биорегуляции и геронтологии северо-западного отделения РАМН. – СПб., 2006. - 24 с.

35. Бритова А. А. Заболевания пародонта Основы клинической стоматологии / А. А. Бритова; под ред. А. К. Иорданишвили. - М.: Медицинская книга, 2010. - С. 313-351.
36. Булгакова А. И. Изменения показателей местного иммунитета десны и ротовой полости больных при лечении хронического пародонтита / А. И. Булгакова // Пародонтология. - 2002. - № 1-2 (23). - С. 55-59.
37. Булкина Н. В. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита / Н. В. Булкина, В. М. Моргунова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2 (часть 2). – стр. 415-420.
38. Бутюгин И. А. Особенности лечения воспалительных заболеваний пародонта у 40-50-летних пациентов / И. А. Бутюгин, Г.И. Ронь // Пародонтология. - 2003. - № 3 (28). - С. 36-41.
39. Варава Г. Н. Иммунологический статус больных пародонтитом в зависимости от тяжести патологического процесса в тканях пародонта / Г. Н. Варава, Г. Ф. Белоклицкая, Ю. В. Дьяченко // Стоматология (Киев) –№ 115. - С. 5-7.
40. Вебер В. Р. Клиническая фармакология для стоматологов / В. Р. Вебер, Б. Т. Морз. – СПб: Человек., 2003. – 352 с.
41. Вольф Г. Ф. Пародонтология / Г. Ф. Вольф, Э. М. Ратейцхак, К. Ратейцхак; [пер. с немецкого]; под ред. Г. М. Барера. – М.: МЕДпресс-информ. - 2008. – 548 с.
42. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів. Методичні рекомендації - ДФЦ МОЗ Україні, протокол №9 від 30.10.2003 р.

43. Грохольський А. П. Використання нових лікарських форм для лікування генералізованого пародонтиту / А. П. Грохольський, Л. М. Заноздра, С. П. Павлик // Вісник стоматології. - 2001.- №1.- С. 66-67.
44. Віленский Ю. Всемогутні «карлики» : Застосування нанотехнологій у медицині й фармакології / Ю. Віленский // День. – 2007. – С. 6
45. Нанохімія. Наносистеми. Наноматеріали. [Волков С. В., Ковальчук С. П., Генко В. М., Решетняк О. В.]– Київ, Наукова думка. – 2008. - 422 с.
46. Скібіцька О. О. Вплив сорбційної терапії на процеси регенерації слизової оболонки порожнини рота на етапах лікування виразково-некротичного стоматиту / О. О. Скібіцька, В. М. Краснопольська // Современная стоматология. - 2012. - N 2. - С. 77-79.
47. Гажва С. И. Анализ клинико-иммунологического статуса полости рта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом легкой и средней степеней тяжести при использовании антибактериальных средств / С. И. Гажва, А. И. Воронина, О. В. Шкаредная // Стоматология. - 2010 - Т. 89 - № 3. - С.30-33.
48. Гажва С. И. Влияние антибактериальных препаратов на состояние местного иммунитета полости рта у больных хроническим генерализованным пародонтитом / С. И. Гажва, А. И. Воронина, Ясин Мауда // Институт стоматологии. - 2010. - № 3 (48). - С. 70-73.
49. Галабуева А. И. Дифференцированное применение антибиотиков в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21; 03.00.07 / Галабуева А. И.; М., 2005. – 129 с.
50. Галанов А. И. Разработка магнитоуправляемой системы для доставки химиопрепаратов на основе наноразмерных частиц железа / А. И. Галанов, Т. А. Юрмазова, Г. Г. Савельев и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2008. - №27 С. 50–57.

51. Геращенко И. И. Силикс — отечественный сорбент многоцелевого назначения / [Электронный ресурс]: И. И. Геращенко - Проовизор. - №9. – 2005.
52. Годовалов А. П. Некоторые особенности лабораторной диагностики дисбиотических состояний полости рта / А. П. Годовалов, Л. П. Быкова, Е. Д. Шипилина. // В мире научных открытий. – 2010. - №4. (10). - Часть 14. с. 7-8.
53. Гончарук Л. В. Взаимосвязь воспалительных заболеваний пародонта и соматической патологии / Л. В. Гончарук К. Н. Косенко, С. Ф. Гончарук // Современная стоматология (Киев) – 2011. - N 1 с. 37-40.
54. Гончарова Е. И. Растительные средства в профилактике и лечении заболеваний пародонта. / Е. И. Гончарова // Российский стоматологический журнал. - 2012. - № 3. с. 48-52.
55. Горбатова Е. А. Отечественные препараты из растительного сырья в комплексном лечении заболеваний пародонта / Е. А. Горбатова, Т. И. Ломецкая, Б. М. Мануйлов // Институт стоматологии. - 2000. - № 1 (6). - С. 32-33.
56. Горбачева И. А. Комплексные подходы к лечению больных сочетанными заболеваниями внутренних органов и воспалительными поражениями пародонта: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.05; 14.00.21 / И. А. Горбачева; Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова. – СПб., 2004. -42 с.
57. Горбачева И. А. Обоснование использования системных терапевтических подходов в комплексном лечении больных генерализованным пародонтитом / И. А. Горбачева, А. И.Кирсанов, Л. Ю.Орехова, В. И.Калинин // Тр. VI съезда СТАР -М., 2000.-С. 183-185.
58. Горбик П. П. Физико-химические и медико-биологические аспекты создания полифункциональных нанокомпозитов и нанороботов / П. П. Горбик, В. Ф. Чехун, А. П. Шпак // Тези конференції «Нанорозмірні системи. Будова-властивості-технології» Київ - 2007. – С.422.

59. Григ Н. І. Ендогенна інтоксикації як фактор ризику у комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту / Н. І. Григ // Современная стоматология. - 2015. - № 1. - С. 28-32.
60. Григорьян А. С. Общая патология и проблемы теории и практики стоматологии / А. С. Григорьян // Стоматология. – 2002. – № 5. – С. 7–10.
61. Гроппо Ф. К. Использование фитотерапии в стоматологии. / Ф. К. Гроппо, К. Бергамаша, К. Кого - Phytotherapy Research 2008. - Том 22. - Издание 8. - С.993-1133.
62. Грохольский А. П. Назубные отложения: их влияние на зубы, околозубные ткани и организм / А. П. Грохольский, Н. А.Кодола, Т. Д. Центилю - К.:Здоров'я 2000. - 159с.
63. Грудянов А. И. Быстропрогрессирующий пародонтит / А. И. Грудянов – М., 2002. – 115 с.
64. Грудянов А.И. Заболевания пародонта / А. И. Грудянов – М., Медицинское Информационное Агентство, 2009. - 336 с.
65. Грудянов А. И. Иммунологические показатели крови при быстропрогрессирующем пародонтите / А. И. Грудянов, И. В Безрукова // Стоматология - 2000.-№ 3.-С. 15-17.
66. Грудянов А. С. Болезни пародонта: патогенез, диагностика, лечение / А. С. Грудянов, А. С.Григорьян, О. А. Фролова // Руководство для врачей. - Москва. - 2004. - 320с.
67. Грудянов А. И. Поддерживающая терапия. Ее роль при лечении заболеваний пародонта (обзор литературы) / А. И. Грудянов, Н. А. Стариков, С. Ф. Бякова // Пародонтология. 2001. - № 1-2 (19-20). - С. 24-27.
68. Гужевська Н. С. Клінічна ефективність застосування фітозасобів багатоспрямованої дії в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.22 / Н. С. Гужевська; Нац. мед. ун-т ім. О.О.Богомольця.- К., 2000.- 20 с.

69. Гук А. С. Микрофлора полости рта в норме и при патологии. Основы клинической стоматологии. / Гук А. С. - под ред. А. К. Иорданишвили. - М.: Медицинская книга, 2010. - С. 55-57.
70. Гусев А. И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. / А. И. Гусев; 2.е изд. Испр. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2007. – 416 с.
71. Гусева О. Ю. Обоснование дифференцированного подхода к антибиотикотерапии при обострении хронического генерализованного пародонтита / О. Ю. Гусева, Н. В. Булкина, Е. Н. Полосухина // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – Т. 7, № 1 – С. 287–288.
72. Данилевский Н. Ф. Заболевания пародонта. / Н. Ф. Данилевский, А. В. Борисенко К. // Здоров'я, 2000. - 464 с.
73. Захворювання пародонта / Данилевский М. Ф. [и др.]. - Том 2, К.: «МЕДИЦИНА», 2010. - 543 с.
74. Захворювання пародонта / Данилевский М. Ф. [и др.]. - Том 3, К.: Том 3, К.: «МЕДИЦИНА», 2008. - 614 с.
75. Данилевский Н. Ф. Фитотерапия в стоматологии. / Н. Ф. Данилевский, Т. Д. Зинченко, И. А. Кодола. - Киев: Здоровья, 1984. - 176 с.
76. Данилевский Н. Ф. Фармакотерапія захворювань слизової оболонки порожнини рота і тканин пародонта / Н. Ф. Данилевский, М. А. Мохорт, В. В. Мохорт. – К.: Здоров'я. 1998. – 408 с.
77. Данилович Г. В. Вплив іонного та колоїдного золота на АТР-гідролазні ферментні системи в мембрані мікроорганізмів *Bacillus* sp B4253 та *Bacillus* sp B4851 / Г. В. Данилович, Т. Г. Грузіна, З. Р. Ульберг, С. О. Костерін // Укр. біохім. журнал. — 2007. — №77. — С. 82–87.
78. Дедова Л. Н. Физиотерапия в периодонтологии: принципы, показания и противопоказания: Учеб.-метод, пособие / Л. Н. Дедова [и др.] / Минск: БГМУ, 2007. - 36 с.
79. Дерейко Л. В. Застосування антигомотоксичної терапії в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту. / Л. В. Дерейко, О. О.

- Жизномирська, Л. Г. Самойлюк, Г. Г. Трух, Т. О. Нефьодова // Медицина транспорту України. – 2005. №3 - С. – 63-65.
80. Дмитриева Л. А. Болезни пародонта / Л. А. Дмитриева // Терапевтическая стоматология : учеб. Пособие; под ред. проф. Л. А. Дмитриевой. – М.: МЕДпресс-информ, 2003. – С. 531–635.
81. Дмитриева Л. А. Современные аспекты клинической пародонтологии. / Л. А. Дмитриева – М., 2001. – 125 с.
82. Дмитриева Л. А. Особенности изменения микрофлоры пародонтального кармана при применении озонотерапии / Л. А. Дмитриева [та ін.] // Пародонтология. – 2004. – №4 (33). – С. 20–24.
83. Colgate Total Plus Whitening - зубная паста, предотвращающая образование зубного налета, зубного камня и возникновение гингивита / Дональд Аллен Р., Гуидо В., Батиста, Долорес М. Петроне и др. // Клин. стоматология. - 2003. - №1.- С. 82-86.
84. Дубова М. А. Расширение возможностей эстетической реставрации зубов. Наноконпозиты. / М. А. Дубова, А. В. Салова, Ж. П. Хиора - СПб: Издательский Дом Санкт-Петербургского государственного университета, 2005. - 142с.
85. Дунязина Т. М. Заболевания эндодонта, пародонта и слизистой оболочки полости рта / Т. М. Дунязина; под ред. А. К. Иорданишвили. М.: МЕДпресс информ, 2008. - С. 178-182.
86. Дунязина Т. М. Особенности клинического течения и лечения пародонтоза в пожилом и старческом возрасте: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.30; 14.01.14 / Т. М. Дунязина; - М., 1982. - 21 с.
87. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986 р.: Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи).
88. Ермаева С. С. Лечение заболеваний пародонта с применением импульсного сложномодулированного электромагнитного излучения:

- автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Санкт-Петербургский гос. мед. ун-т им. И. П. Павлова. – СПб., 2000. - 16 с.
89. Ермакова И. П. Биохимические маркеры обмена костной ткани и их клиническое использование / И. П. Ермакова // Лаборатория. – 2001. – № 1. – С. 3–5.
90. Желудева И. В. Обоснование выбора бактериофагов для лечения воспалительных заболеваний пародонта / И. В. Желудева, Е. Л. Жиленков, Л. Н. Максимовская, С. А. Чубатова, В. М. Попова // Пародонтология. 2002. - № 1-2 - С. 46-50.
91. Желудева И. В. Определение микроорганизмов в клинических образцах при гингивите и пародонтите / И. В. Желудева, В. М. Попова, Л. Н. Максимовская // Пародонтология. 2004. - № 4 (33). - С. 52-55.
92. Жяконис Й. М. Иммунологические аспекты гингивита и пародонтита: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Й. М. Жяконис - Каунас, 1986. - 36 с.
93. Заболевания пародонта / [под ред. проф. Л. Ю. Ореховой]. - М., 2004. - 432 с.
94. Генералізований пародонтит / [Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, А. В. Марков, І. В. Шилівський] // Львів, «ГалДент», 2011. - 239 с.
95. Загнат В. Ф. Изучение взаимосвязи признаков воспаления пародонта с изменениями микробного содержимого пародонтальных карманов по данным микроскопии: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / В. Ф. Загнат; М., 1992. - 22с.
96. Зубачик В. М. Мембранні механізми патогенезу та терапії запальних процесів пародонту: дис ... д-ра мед. наук: 14.01.22 / В. М. Зубачик; Львівський національний медичний ун-т ім. Данила Галицького. - Л., 2005. – 34с.
97. Зубачик В. М. Обґрунтування застосування лазерного випромінювання в поєднанні з наночастинками срібла для дезінфекції каналу кореня зуба / В. М. Зубачик, А. Я. Бариляк // Современная стоматология. – 2008. №3. – С 27-30.

98. Зубачик В. М. Нанотехнології у дезінфекції каналу кореня зуба. Дослідження з використанням наночастинок срібла *in vitro* / В. М. Зубачик, А. Я. Баріляк // Новини стоматології. – 2008. – №2. – С. 28-32.
99. Зырянова Н. В. Видовой состав анаэробной микрофлоры пародонтального кармана в зависимости от стадии пародонтита / Н. В. Зырянова, А. С. Григорьян, А. И. Грудянов, О. А. Фролова, И. И. Шильникова, М. И. Кобозев // Стоматология. – 2009. - №4, С. 43-47.
100. Иванова Ж. В. Распространенность, интенсивность и особенности клинического течения заболеваний пародонта у лиц молодого возраста / Ж. В. Иванова // Современ. Стоматология. - 2002.- №4.- С. 28-30.
101. Иванченко И. Г. Фармакотерапия при заболеваниях пародонта / И. Г. Иванченко // Пародонтология. - 2001. - № 1-2 (19-20). – С. 8-12.
102. Изучение специфической активности противомикробных лекарственных средств. Методические рекомендации // ДФЦ МОЗ Украины, протокол №9 от 30.10.2003 г.
103. Иорданишвили А. К. Эпидемиология заболеваний пародонта. Заболевания эндодонта, пародонта и слизистой оболочки полости рта / А. К. Иорданишвили - М.: МЕДпресс информ, 2008. - С. 178-182.
104. Карпенко И. Н. Современные представления об этиологии и патогенезе быстро прогрессирующего пародонтита / И. Н. Карпенко, Н. В. Булкина, Е. В. Понукалина // АРХИВ ПАТОЛОГИИ - М.: Издательство Медиа Сфера 2009. - №1, С.57-59.
105. Киржанова Е. А. Методы анализа мукоадгезии: от фундаментальных исследований к практическому применению в разработке лекарственных форм / Е. А. Киржанова, В. В. Хуторянский, Н. Г. Балабушевич, А. В. Харенко, Н. Б. Демина // Разработка и регистрация лекарственных средств, 2014. - №8. – С. 24-30.
106. Кирсанов А. И. Подходы к лечению генерализованного пародонтита как симптоматического проявления патологии внутренних органов / А. И.

- Кирсанов, И. А. Горбачева // Ученые записки. – СПб., 2000. – Т. VII, № 2. – С. 18–26.
107. Кирсанов А. И. Хроническая одонтогенная очаговая инфекция и соматические заболевания / А. И. Кирсанов, И. А. Горбачева // Пародонтология. – 2001. – № 4 (22). – С. 35–39.
108. Кирсанов А. И. Значение оценки общесоматического состояния пациента на стоматологическом приеме / А. И. Кирсанов, И. А. Горбачева, Э. А. Бодякина [и др.] // Пародонтология. – 2001. – № 1–2 (19–20). – С. 13.
109. Клейносова А. А. Опыт применения комплексных антигомотоксических препаратов (Traumeel S, Osteoheel и Calcohel) при лечении пародонтитов / А. А. Клейносова // Биологическая терапия. — 1999.— № 1.— С. 44.
110. Ковалевский А. М. Заболевания эндодонта, пародонта и слизистой оболочки полости рта / А. М. Ковалевский; под ред. А. К. Иорданишвили. - М.: МЕДпресс информ, 2008. - С. 183-248.
111. Ковалевский А. М. Лечение пародонтита // А. М. Ковалевский - М.: Медицинское информационное агентство, 2010. - 159 с.
112. Коленко Ю. Г. Клинико-иммунологическое и биохимическое обоснование особенностей комплексного лечения генерализованного пародонтита у больных с различными иммунными нарушениями / Ю. Г. Коленко, А. Г. Димитрова, О. О. Шекера // Современная стоматология - 2010р. - № 1- С.59-61.
113. Косенко К. Н. Микробные ассоциации пародонтального кармана у больных генерализованные пародонтитом / К. Н. Косенко, Ю. Г. Чумакова, Е. А. Городенко // Вісник стоматології. - 2000. - №3.- С.10-13.
114. Кремнеземы в медицине и биологии [под ред. акад. НАН Украины А. А.Чуйко]. // Киев-Ставрополь, 1993. — 260 с.

115. Кузнецов Е. В. Терапевтическая стоматология : учеб. пособие Микробная флора полости рта и ее роль в развитии патологических процессов / Е. В. Кузнецов, В. Н. Царев; под ред. проф. Л. А. Дмитриевой. – М.: МЕДпресс-информ, 2003. – С. 178–212.
116. Кукес В. Г. Фитотерапия с основами клинической фармакологии: справочник / В. Г. Кукес. - М.: Медицина, 1999. – 13 с.
117. Кульский Л. А. Серебряная вода. / Л. А. Кульский – Киев: Освита, 1977. – 176 с.
118. Курякина Н. В. Заболевания пародонта / Н. В. Курякина - Москва. Медицинская книга. - Н.Новгород, 2007. - 292 с.
119. Курякина Н. В. Заболевания пародонта / Н. В. Курякина, Т. Ф. Кутепова - М.: Медицинская, книга; Н. Новгород: Изд. НГМА, 2000. - 162 с.
120. Кутушева Р. Р. Комплексное лечение воспалительных заболеваний пародонта у беременных женщин с применением энтеросорбента и фитотерапии / Р. Р. Кутушева - материалы Всероссийского симпозиума. – Уфа, 2004. – С. 119–121.
121. Кутушева Р. Р. Оптимизация комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта у беременных женщин с применением энтеросорбента и фитотерапии / Р. Р. Кутушева - материалы Всероссийского симпозиума. – Уфа, 2004. – С. 119–121.
122. Кутушева Р. Р. Фитотерапия с применением сорбента при лечении гингивита у беременных женщин / Р. Р. Кутушева - монография – Уфа, 2007. – 103 с.
123. Кутушева Р. Р. Новое лекарственное средство с применением сорбента при лечении гингивита у беременных женщин / Р. Р. Кутушева - монография – Уфа, 2008. – 101 с.
124. Куцевляк, В. Ф. Чувствительность к антибактериальным препаратам микробной флоры пародонтальных карманов больных генерализованным пародонтитом по результатам бактериологических

- исследований / В. Ф. Куцевляк, О. В. Любченко - Современная стоматология 2005р. - № 1, - С.58-61.
125. Левин М. Я. Значение аутоиммунных процессов в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта / М. Я. Левин, Л. Ю. Орехова - Пародонтология. 1996. - № 1. - С. 19-26.
126. Лозовикова В. А. Оценка эффективности применения циклоферона, полиоксидония в комбинации с различной антибактериальной терапией в комплексном лечении хронического катарального гингивита и генерализованного пародонтита / В. А. Лозовикова - Стоматолог - 2011р. - № 6.- С.49-54.
127. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Экспериментальные исследования. Клинические испытания. Анализ фармацевтического рынка // С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, Л. Н. Бабич - К.:Морион, 2000.- 319с.
128. Лахтин В. М. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, М. В. Лахтин - Вестн. РАМН, 2008. – №4. – С. 50-55.
129. Левицкий А. П. Дисбиотические аспекты патогенеза стоматологических заболеваний / А. П. Левицкий – Стоматолог, 2011. - № 6. – 32 с.
130. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А.П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
131. Левицкий А. П. Физиологическая микробная система полости рта / А. П. Левицкий - Вісник стоматології – 2007. - №1. – С. 6-11.
132. Левицкий А. П. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости (методи. рекомендації) / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко - Одесса, 2010. – 16 с.
133. Пат. України № 16048, ПМК (2006) А61В 5/00 Спосіб оцінки дисбактеріозу порожнини рота / Левицкий А. П. ; заявитель и

патентообладатель Институт стоматологии АМН Украины. – u200601643 від 17.07.2006р. – Бюл. №7 – 3с.

134. Левицкий А. П. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков (метод. рекомендации) / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.] – К.: ГФЦ, 2007. – 26 с.
135. Левицкий А. П. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков, Ю. В. Зеленіна - Одеський мед. журн., 2006. – № 3. – С. 17-21.
136. Левицкий А. П. Дисбиотические аспекты патогенеза, профилактики и лечения стоматологических заболеваний / А. П. Левицкий, А. К. Николишин, Е. П. Ступак [и др.] // Проблемы экологии та медицини. – 2011. – т. 15, № 3-4 (додаток 1). – С. 103.
137. Левицкий А.П. Влияние аппликаций геля с протамином на биохимические показатели воспаления и дисбиоза в десне крыс / А. П. Левицкий, Н. Л. Хлыстун, Е. П. Ступак, С. В. Гончарук, К. В. Скидан // Вісник стоматології. – 2012. – Спец. випуск № 7 – С. 9-12.
138. Левицкий А. П. Порівняльна ефективність застосування яєчного лізоциму та фітолізоциму при лікуванні експериментального пародонтиту / А. П. Левицький, А. І. Фурдичко // Вісник стоматології – 2012. - N 1 – с.2-4.
139. Лекарственные растения в стоматологии 2-е изд., доп. / [А. И. Марченко, И. А. Баранюк, Е. В. Левицкая, Е.П. Соколовская]. - Кишинев: Штиинца, 1989. - 182 с.
140. Оправин А. С. Лекарственные средства в терапевтической стоматологии: учебное пособие для врачей-стоматологов/ А. С. Оправин, Н. А. Назаренко, Т. В. Вилова - Архангельск, 2009. - 216 с.
141. Липковская Н. А. Сорбция природных фенольных соединений на дисперсных кремнеземах / Н. А. Липковская, В. К. Погорелый, А. А. Чуйко - Хим.-фарм. журн. 1997. - Т. 31. - № 7. - С. 44 - 47.

142. Лукиных Л. М. Профилактика кариеса зубов и болезней пародонта / Л. М. Лукиных – М.: Медицинская книга, 2003. – 196 с.
143. Мазур И. П. Остеотропная терапия в комплексном лечении заболеваний пародонта / И. П. Мазур // Проблемы остеологии. – 2001. – Т. 4. № 1–2. – С. 99–101.
144. Мазур И. П. Некоторые аспекты патогенеза резорбции альвеолярного гребня при генерализованном пародонтите / И. П. Мазур, В. В. Поворознюк // Пародонтология. – 1999. – № 3 (13). – С. 19–23.
145. Мазур І. П. Клініко-патогенетичні особливості перебігу захворювань пародонта при порушенні системного кісткового метаболізму та їх корекція: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук: 14.01.21 / І. П. Мазур; Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (Київ). – Одеса. 2006. – 32с.
146. Мазур И. П. Костная система и заболевания пародонта / И. П. Мазур, В. В. Поворознюк, // Современная стоматология. – 2002. – № 2. – С. 27–32.
147. Мазур І. П. Структурно-функціональний стан тканин пародонту в людей різного віку та статі / І. П. Мазур // Современная стоматология. – 2005. – № 4. – С. 48–51.
148. Мазур Р. Местная антибактериальная терапия активных пародонтальных карманов / И. П. Мазур // Новое в стоматологии 2000. - №4 (84). С. 78–80.
149. Максименко П. Т. Побічна дія медикаментозних засобів у стоматологічній практиці / П. Т. Максименко – Полтава, 2004. – 180 с.
150. Мащенко И. С. Болезни пародонта / И. С. Мащенко – Днепропетровск: Коло, 2003. – 273с.
151. Мащенко И. С. Заболевания пародонта / И. С. Мащенко – Днепропетровск : КОЛО, 2003. – 272 с.

152. Мащенко Ш. С. Мікробіологічні та імунні аспекти гігієнічного стану порожнини рота у хворих на генералізований пародонтит / Ш. С. Мащенко, Ю. М. Бунь // Вісник стоматології. - 2000.- №5.- С.46-48.
153. Мащенко И. С. Мікробіологічні аспекти генералізованого та симптоматичного пародонтиту / И. С. Мащенко, А. В. Самойленко // Медичні перспективи.- 2000.- Т.5, №2.- С.77-82.
154. Мащенко И. С. Новые аспекты патогенеза и лечения генерализованного пародонтита / И. С. Мащенко, А. В. Самойленко // Вісник стоматології. – 2002. - № 1 - С.12-15.
155. Мащенко И. С. Клинические, биохимические и иммунологические аспекты возникновения начальной степени генерализованного пародонтита / И. С. Мащенко, Ю. В. Чернова, Ю. И. Чарун // Вісн. стоматології. - 2001. - №3. - С. 8.
156. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния: [под ред. А. А. Чуйко.] - Киев: Наук. думка, 2003. - 416 с.
157. Мельничук Г. М. Алгоритм виникнення й розвитку генералізованого пародонтиту та пародонтозу. Схема комплексного лікування генералізованого пародонтиту / Г. М. Мельничук, Політун А. М. // Современная стоматология – 2013. - N 1. С.35-40.
158. Мельнічук Г. М. Гінгівіт, пародонтит, пародонтоз: особливості лікування / Г. М. Мельнічук, М. М. Рожко, Н. В. Нейко // Навчальний посібник. Івано-Франківськ, 2004. – 280с.
159. Местная фармакотерапия воспалительных заболеваний пародонта: метод. рекомендации / Л. В. Тимофеева, Л. Р. Мухамеджанова // Казан. гос. мед. ун-т Росздрава. - Казань : Арт-Кафе, 2009. - 25 с.
160. Мінцер О. П. Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині / О. П. Мінцер, Ю. В. Вороненко, В. В. Власов. – К. : Вища шк., 2003. – 350 с.
161. Москаленко В. Ф. Наукові основи наномедицини, нанофармакології та нанофармації / В. Ф. Москаленко, В. М. Лісовий, І. С. Чекман //

Науковий вісник національного медичного університету імені О.О.Богомольця. – 2009. - № 2. – С. 17-31.

162. Москаленко В. Ф. Нанотехнології, наномедицина, нанофармокологія: стан, перспективи наукових досліджень, впровадження в медичну практику / В. Ф. Москаленко, Л. Г. Розенфельд, Б. О. Мовчан, І. С. Чекман // 1 національний конгрес «Человек и лекарство – Украина». Київ. 2008 – С. 167.
163. Москаленко В. Ф. Нанонаука: стан, перспективи досліджень / В. Ф. Москаленко, Л. Г. Розенфельд, І. С. Чекман, // Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. – 2008. - №4. – С. 19-25.
164. Мурзина Э. А. Обоснование применения энтеросорбентов в комплексной терапии хронических аллергодерматозов / Э. А. Мурзина // Мистецтво лікування. Журнал сучасного лікаря. - 2013. - № 2/3. - С. 50-53.
165. Мюллер Х. П. Пародонтология / [науч. ред. изд. на русск. яз. проф. А.М. Политун]. – Львов: ГалДент, 2004. – 256 с.
166. Назарян Р. С. Патогенетичне обґрунтування корекції аліментарного фактора у комплексному лікуванні хвороб пародонта: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.22 / Назарян Розана Степанівна; Національний медичний університет імені О.О. Богомольця – К.: 2006. – 36 с.
167. Нейзберг Д.М. Комплексный подход в прогнозировании течения и результатов лечения хронического генерализованного пародонтита, сочетающегося с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.22 / Нейзберг Даниил Михайлович; Санкт-Петербургский государственной медицинский университет имени И. П. Павлова. - СПб., 2004. - 20 с.
168. Наносферы на помощь // Dental-tribune 2006 - №1. - Том 5.
169. Николаева А. В. Макро-микроскопические исследования зубочелюстной системы крыс при воздействии на верхний шейный

- симпатический узел / А. В. Николаева // В кн.: Материалы к макро-микроскопической анатомии. – Киев, 1965. Вып. 3. – С. 96-101.
170. Овчаренко Ф. Д. О силах взаимодействия микроорганизмов и минеральных частиц в природных дисперсных системах. Физико-химическая механика и лиофильность дисперсных систем / Ф. Д. Овчаренко, В. Р. Эстрела-Льопис, А. И. Гаврилюк, А. С. Духин — К.:Наукова Думка, 1985. — Вып. 17. — С. 3–14.
171. Оправин А. С. Лекарственные средства в терапевтической стоматологии: учебное пособие для врачей – стоматологов / А. С. Оправин, Н. А. Назаренко, Т. В. Вилова // Архангельск, 2009. - 216 с.
172. Пародонтит / под ред. проф. Л. А. Дмитриевой. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 504 с.
173. Патон Б. Є. Нанонаука і нанотехнології – технічний, медичний та соціальний аспекти / Б. Є. Патон // Вісник Національної академії наук України. – 2009. - №6. – С.18-26.
174. Петри А. Наглядная статистика в медицине / А. Петри [пер. с англ. В. П. Леонова Петри А., Сэбин К.] – М.: ГЭОТАР-МЕДИА. 2009. – 166 с.
175. Петров Ю. И. Физика малых частиц / Ю. И. Петров; - Москва: Наука, 1982. - с. 359.
176. Пимоненко Н. А. Механизмы адсорбционных процессов в углеволокнистых энтеросорбентах / Н. А. Пимоненко // Укр. журн. мед. техники и технологии. – 1998. – № 4. – С. 25-31.
177. Пиндус Т. А. Аутофлора десневой борозды и ее роль в формировании различных клинических проявлений генерализованного катарального гингивита / Т. А. Пиндус // Современная стоматология. - 2004. - № 4. - С.13-15.
178. Плескановская Н. В. Обоснование и оценка эффективности местной комбинированной (противовоспалительной, антибактериальной и иммуностропной) терапии в комплексном лечении воспалительных

- заболеваний пародонта / Н. В. Плескановская // Стоматология, 2010. - Т. 89 - № 3 - С.26-30.
179. Покидько О. А. Применение гелевого сорбента "Гелевин" в комплексном лечении пародонтита: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Покидько Ольга Анатольевна; Воронежская государственная медицинская академия имени Н. Н. Бурденко Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию. – В.: 2007. – 19 с.
180. Потапченко Н. Г. Кинетика подавления роста *Escherichia coli* серебром // Н. Г. Потапченко, О. С., Л. А. Славук Кульский // Микробиология. – 1985. – №4. – С. 23-26.
181. Прикулс В. Ф. Трехэтапный подход в комплексном восстановительном лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом / В. Ф. Прикулс, Е. В. Жданов, М. Ю. Герасименко // Клиническая стоматология - 2008. - N 4. – С.74-76.
182. Прозапальна дія ліпополісахариду на слизову оболонку порожнини рота щурів / А.П. Левицький, С.О. Дем'яненко, О.А. Макаренко [та ін.] // Одеський мед. журн. – 2010. – № 2 (118). – С. 9-11.
183. Пухлик Б.М. Лекарственная аллергия. / Б. М. Пухлик – К.: Здоров'я, 1989. – 96с.
184. Ральер Мазур Местная антимикробная терапия активных пародонтальных карманов / Ральер Мазур // Новое в стоматологии. — 2000. — № 4. — С.78-81.
185. Рациональная фармакотерапия в стоматологии / под.ред. проф.. Г. М. Барерав, Е. В. Зорян. – М.: Литтерра, 2006. – 568с.
186. Ковшов В. В. Оптимизация антибактериальной терапии острых гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и шеи: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.21 / Ковшов В. В.; Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Иркутский государственный институт

- усовершенствования врачей федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» - И., 2007. – 127 с.
187. Риткер Пауль Действие коллоидного серебра на иммунитет / Пауль Риткер // Бостон. Новости медицины. – 1999. – Т. 4. - №15. – С. 120.
188. Новое в профилактике и лечении воспалительных заболеваний пародонта: Научный вестник Тюменской медицинской академии: Материалы научно - практической конференции "Приоритеты профилактики стоматологических заболеваний в условиях Сибири". – Тюмень, 2009. - 75 с.
189. Рябоконт Е. Н. Тонкостенные пародонтальные каппы для местного медикаментозного лечения хронического генерализованного пародонтита / Е. Н. Рябоконт, М. Б. Худякова, О. В. Крылова // Медицина сьогодні і завтра. 2008. - №2 - С.49-52.
190. Самойленко А. В. Принцип лікування генералізованого пародонтиту, асоційованого з кампілобактеріальною інфекцією / А. В. Самойленко // Вісник стоматології. - 2000. - №4. - С.28-30.
191. Самойленко А. В. Сучасні аспекти етіології, патогенезу та лікування різних клінічних варіантів генералізованого пародонтиту: автореф. ис. ... д-ра мед. наук: 14.01.22 / Самойленко Андрій Валерійович; Інститут стоматології академії медичних наук України. - Одеса, 2003. – 34с.
192. Сергеев Г. Б. Нанохимия 2-е изд., испр. и доп. / Г. Б. Сергеев - Изд-во МГУ, - Москва. 2007- 336 с.
193. Сергеев Б. М. Коллоид / Б. М. Сергеев, Л. И. Лопатина, А. Н. Прусов, Г. Б. Сергеев // журн. 2005, - №1. - 79.
194. Сердюк І. Н. Клініко-патогенетичні особливості застосування протизапальних засобів та ангіопротекторів у комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.22 / Сердюк Ігор Нестерович; Національний медичний університет імені О.О.Богомольця. - К., 2005. – 20 с.

195. Сивовол С. И. Использование современных антимикробных и противовоспалительных препаратов местного действия в лечении воспалительных заболеваний пародонта / С. И. Сивовол // *Стоматолог* 2005. - №8. - С.41–42.
196. Сивовол С. И. Клинические аспекты пародонтологии / С. И. Сивовол – М.: Изд. «Триада-Х» - 2001. – 165с.
197. Сивовол С. И. Первичные факторы в этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний пародонта / С. И. Сивовол // *Стоматолог.* — 2006. — № 6. — С. 37-48.
198. Сидельникова Л. Ф. Клинико-лабораторная оценка эффективности препарата "Лисобакт" в комплексном лечении больных генерализованным пародонтитом / Л. Ф. Сидельникова // *Современная стоматология* 2005. - № 1 - С.49-51.
199. Сидельникова Л. Ф. Клиническая оценка эффективности зубных паст "SILCA" в комплексной профилактике и лечении заболеваний пародонта / Л. Ф. Сидельникова, И. Г. Дикова, С. М. Захарова // *Совр. стоматология.* - 2003. - №2. - С. 47-48.
200. Сидельникова Л. Ф. Стабилизирующий эффект имудона в комплексном лечении заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта / Л. Ф. Сидельникова, И. Г. Дикова, Б. А. Ревенок, С. М. Захарова // *Современная стоматология.* 2004. - № 2. - С. 60-62.
201. Сидельникова Л. Ф. Влияние препарата "Имудон" на стабилизацию патологического процесса в пародонте при лечении генерализованного пародонтита / Л. Ф. Сидельникова, Ю. Г. Коленко О. В. Линовицкая // *Современная стоматология* 2003. - № 1. - С.42-44.
202. Сидельникова Л. Ф. Обоснование и перспективы применения методов сорбционной терапии в комплексной профилактике стоматологических заболеваний / Л. Ф. Сидельникова, Е. А. Скибицкая // *Современная стоматология* - №2. - 2012 - С. 32-34.

203. Сидельникова Л. Ф. Зубная паста Blend-a-Med Complete+Herbal - новые возможности в профилактике и лечении воспалительных заболеваний пародонта / Л. Ф. Сидельникова, А. Г. Ткаченко, А.Е. Захарова // Совр. стоматология. - 2003. - N2. - С. 41-43.
204. Соболева Л. А. Иммуностропная терапия пародонтита у больных с хроническими вирусными и бактериальными инфекциями / Л. А. Соболева // Стоматология 2010. - Т.89. - № 3. - С.20-22.
205. Соколова И.И. Роль гиалуронидазы в патогенезе дистрофически-воспалительных заболеваний пародонта / И.И. Соколова, Н.Л. Хлыстун, А.П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2012. – Спец. выпуск - № 6. – С. 125.
206. Сорбенты и их клиническое применение / под ред. К.Джиордано. – К.: Вища шк. Головное изд-во, 1989. – 400 с.
207. Сорокина Н. В. Эндо-пародонтальные поражения: интегральный подход к диагностике и лечению / Н. В. Сорокина // Пародонтология. 2006. - № 2 (39). - С. 17-21.
208. Соснина Ю. С. Анализ факторов возникновения локализованного пародонтита / Ю. С. Соснина, А. В. Смирнова // Институт стоматологии. 2010. - № 3 (48). - С. 68-69.
209. Сравнительная характеристика энтеросорбентов // Лечащий врач. - 2012. - N 7. - С. 51.
210. Ставицкая С. С. Получение и свойства комбинированных сорбентов на основе модифицированного угля и глубоководных пелоидных систем / С. С. Ставицкая, В. М. Викарчук, Н.Н. Цыба // Эфферентная терапия. – 2007. – Т. 13. - № 4. – С. 13–20.
211. Степанова С. В. Комплексный подход в лечении язвенно-некротических процессов СОПР и воспалительных заболеваний пародонта / С. В. Степанова, В. И. Фесенко // Український стоматологічний альманах - 2013. - N 3 С.36-39.

212. Стягайло С. В. Антибактериальная терапия при болезнях пародонта: Метод. указания / С. В. Стягайло, А. А. Зайцев, О. И. Карпов / под ред. проф. Ю.Д. Игнатова. СПб.: МЗ РФ, 2003. - 34 с.
213. Суржанский С. К. Клиническая эффективность комбинированного растительного препарата "Стоматофит" в комплексном лечении генерализованного пародонтита / С. К. Суржанский, Е. К. Трофимец // Современная стоматология (Киев) -2011. - N 1. - С.53-55.
214. Тимофеева Л. В. Побочные эффекты энтеросорбции у пародонтологических больных / Л. В. Тимофеева, Л. Р. Мухамеджанова // Успехи современного естествознания. – 2008. № 9. С. 100-101.
215. Ткаченко Т. Б. Нарушения микроциркуляции пародонта при гингивитах и пародонтитах легкой степени и их фармакологическая коррекция: автореф. дис.... канд. мед. наук: 14.00.21 / Ткаченко Татьяна Борисовна; Петербургский гос. мед. ун-т И.П. Павлова. - СПб., 1999. - 16 с.
216. Толочко О. В. Структура и магнитные свойства наночастиц на основе железа в оксидной оболочке / О. В. Толочко, Ли Д. В., Чой Ч.-Дж. // Письма в ЖТФ. – 2005. - № 31(18) С. 30–36.
217. Трезубов В. Н. Патогенетическая терапия пациентов с заболеваниями пародонта / В. Н. Трезубов, Ю. А. Хорева // Пародонтология. 2001. - № 1-2 (19-20). - С. 17.
218. Трефилов В. И. Фуллерены – основа материалов будущего / В. И. Трефилов // Киев: Изд-во АДЕФ – Украина, 2001. – 148 с.
219. Трохимчук А. К. Формирование наночастиц благородных металлов в пористых кремнезёмах и биологических матрицах / А. К. Трохимчук, А. В. Легенчук, В. И. Подольская // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнології. Збірник наукових праць. – 2008. – Т.6, вип. 2. – С. 509-527.
220. Удальцова Н. А. Системная реакция организма при воспалительных процессах челюстно-лицевой области и патогенетическое обоснование

- лечения / Н. А. Удальцова, Л.А. Ермолаева // Институт стоматологии. - 2007.-№ 1 (34). - С. 34-35.
221. Улитовский С. Б. Практическая гигиена полости рта / С. Б. Улитовский - М., 2002. - 328 с.
222. Улитовский С. Б. Роль гигиены полости рта в развитии заболеваний пародонта / С. Б. Улитовский // Пародонтология. 2000. - № 3 (17). - С. 21-23.
223. Ульберг З. Нанотехнології в медицині: роль колоїднохімічних процесів / З. Ульберг, Т. Грузіна, О. Карпов // Вісн. НАН України, 2008. - № 8. - С. 28-41.
224. Ульберг З. Р. Определение локализации и выделения фактора, связывающего коллоидные частицы золота / З. Р. Ульберг, В. И. Карамушка, Т. Г. Грузина // Биотехнология. — 1986. — №1. — С. 65–68.
225. Ушаков Р. В. Клинико-микробиологические аспекты пародонтита, ассоциированного с грибами рода *Candida* / Р. В. Ушаков, В. Н. Царев, Т. В. Ушакова, А.С. Носик // Пародонтология. 2004. - № 4 (33). - С. 48-51.
226. Ушакова Т. В. Микробиология пародонта / Т. В. Ушакова // Вопросы стоматологии. - 1994. - Т.1. - С.73-75.
227. Фастовець О. О. Клініко-патогенетичне обґрунтування корекції порушень метаболізму кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Фастовець О. О. – К., 2000. – 21 с.
228. Федосенко Т. Д. Хирургические методы лечения заболеваний пародонта / Т. Д. Федосенко, О. В. Прохорова - СПб., 2002. - 34 с.
229. Фролова О. А. Новые подходы к диагностике заболеваний пародонта в свете современной концепции их патогенеза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.21 / О. А. Фролова– М., 2007. – 40 с.

230. Биохимические маркеры воспаления и дисбиоза при аппликации на слизистую полости рта крыс геля с фитолизоцимом, адсорбированном на хитозане / А. И. Фурдычко, О. Э. Кнава // Вісник стоматології. – 2012. - №2 (79). – С. 22-25.
231. Хабинов Л. К. Микрофлора полости рта и зубо-десневых карманов в норме и при пародонтозе / Л. К. Хабинов, П. М. Ахмедов // Основные стоматологические заболевания. - Ташкент, 1998. - С.89-95.
232. Хазанов В. В. Морфология микроорганизмов содержимого зубодесневого кармана в зависимости от тяжести пародонтита / В. В. Хазанов, А. Н. Балашов, В. Ф. Загнат // Стоматология. - 1993. - №3. - С.16-18.
233. Харенко Е. А. Мукоадгезивные лекарственные формы (Обзор) / Н. И. Ларионова, Н. Б. Демина // Химико-фармацевтический журнал. Том 43. - № 4. - 2009. С. – 21-29.
234. Харенко Е. А. Разработка и изучение мукоадгезивных полимерных пленок с белками / Е. А. Харенко, Н. И. Ларионова, Н. Б. Демина // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. – 2009. - №1. – С. 47-51.
235. Харченко Н. Л. Сучасний стан антибіотикорезистентної мікрофлори пародонтальних кишень у хворих на генералізований пародонтит / Н. Л. Харченко // Современная стоматология (Киев) -2011. - N 1. - С. 41-46.
236. Хлыстун Н. Л. Лечебно-профилактическое действие аппликаций геля с гиалуроновой кислотой на состояние десны крыс с экспериментальным гингивитом / Н. Л. Хлыстун, И. И. Соколова, Л. Н. Хромагина, А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2012. - №3. – С.8-10.
237. Химия поверхности кремнезема. В 2-х томах / под ред. А.А. Чуйко. - Киев: ИПФ Укр ИНТЭП, 2001. - 1370 с.
238. Хоменко Л. А. Современные средства экзогенной профилактики заболеваний полости рта / Л. А. Хоменко, Биденко Н. В. – К.: Книга плюс, 2001. – 202 с.

239. Современные средства экзогенной профилактики заболеваний полости рта / [Л. А. Хоменко, Н. В. Биденко, Е. И. Остапко, В. И. Шматко] – К.: Книга плюс, 2001. – 208 с.
240. Хотимченко Ю. С. Применение энтеросорбентов в медицине / Ю. С. Хотимченко, А. В. Кропотов // - Тихоокеанский медицинский журнал, 1999. - №2. - с. 84-89.
241. Хотимченко Ю. С. Энтеросорбенты для больных и здоровых / Ю. С. Хотимченко, А. В. Кропотов // - Медико-фармацевтический вестник Приморья. – 1998. - №4. с. 99-107.
242. Царев В. Н. Антимикробная терапия в стоматологии / В. Н. Царев, Р. В. Ушаков, М.: Мединформ, 2004. - 144 с.
243. Цепов Л. М., Воспалительные генерализованные заболевания пародонта: проблемы, поиски, решения / Л. М. Цепов, А. И. Николаев // Смоленск: СГМА, 2002. - 115с.
244. Цепов Л. М. Этиология и патогенез заболеваний пародонта // Заболевания эндодонта, пародонта и слизистой оболочки полости рта / под ред. А.К. Иорданишвили. - М.: МЕДпресс информ, 2008.- С. 175-178.
245. Цепов Л. М. К вопросу об этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний пародонта / Л. М. Цепов, А. И. Николаев, Е. Н. Жажков // Пародонтология. - 2000. - № 2. - С. 9-13.
246. Цимбалистов А. В. Генерализованный пародонтит и системный остеопороз / А. В. Цимбалистов, Г. Б. Шторина, И. А. Гарапач, Е. Д. Жидких // Институт стоматологии. - 2008. - № 1 (38). - С. 80-81.
247. Цепов Л. М. Диагностика и лечение заболеваний пародонта / Л. М. Цепов, А. И. Николаев. - М.: МЕДпресс-информ, 2002. - 188 с.
248. Цепов Л. М. К пересмотру вопросов патогенеза и принципов лечения хронического генерализованного пародонтита / Л. М. Цепов, А. И. Николаев // Рос. стоматол. журнал. - 2001. - №3. - С. 43-45.

249. Чекман І. С. Нанофармакологія: експериментально-клінічний аспект / І. С. Чекман // Лікарська справа. Врачебное дело. – 2008. – №3-4. – С. 104-109.
250. Чекман І. С. Фармакологія. Підручник для студентів стоматологічних факультетів / І. С. Чекман, В. М. Бобирьов, В. Кресюн - Вінниця Нова книга, 2014. - 431с.
251. Чекман І. С. Фармакологічний, токсикологічний і клінічний аспекти наномедицини / І. С. Чекман, С. Каплинський, Т. Ю. Небесна, А. О. Терентьев // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. - № 4(5). – С. 3 – 9.
252. Чекман І. С. Нанотехнологии и наноматериалы: применение в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии / И. С. Чекман, В. А. Маланчук, М. А. Гордейчук // УКР. МЕД. ЧАСОПИС, 6 (74) – XI/XII 2009. - С 95-97.
253. Чекман І. С. Нанофармакологія: стан та перспективи наукових досліджень / І. С. Чекман, О. В. Ніцак // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – №11. – С. 7-10.
254. Чекман І. С. Нанотоксикологія: напрямки досліджень (огляд) / І. С. Чекман, А. М. Сердюк, Ю. І. Кундієв, І. М. Трахтенберг, С. П. Каплинський, В. Ф. Бабій // Довкілля та здоров'я. – 2009. - №1 (48). С. - 3-7.
255. Чумакова Ю. Г. Патогенетическое обоснование методов комплексного лечения генерализованного пародонтита: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук: 14.01.22 / Ю. Г. Чумакова; ИНСТИТУТ СТОМАТОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ – Одеса, 2008. – 37с.
256. Чумакова Ю. Г. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных генерализованным пародонтитом в зависимости от степени развития заболевания / Ю. Г. Чумакова // Вісник стоматології. - 2004. - № 1. - С. 43-45.

257. Чумакова Ю. Г. Рациональная антибактериальная терапия язвенно-некротического гингивита / Ю. Г. Чумакова // Вісник стоматології. - 2000. - №4. - С.30-31.
258. Чумаков Ю. Г. Содержание лизоцима в различных биологических жидкостях организма у больных с воспалительными и дистрофическими заболеваниями пародонт / Ю. Г. Чумаков, А. И. Перова, О. В. Пириз // Стоматология. - 2001. - №3. - С. 26-28.
259. Ширококов В. П. Бактериологический спектр содержимого пародонтальных карманов у больных генерализованным пародонтитом / В. П. Ширококов, А. В. Борисенко, Л. И. Тивоненко, О. Н. Корнюшенко, Н. В. Ахрамеева // Современная стоматология. - 2003. - №2(22). - С. 29-32.
260. Шульга Л. І. Фітопрепарати в стоматології: сучасний стан та перспективи створення / Л. І. Шульга // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. - 2011. - № 3-4. - С. 151-156.
261. Тимофеева Л. В. Энтеросорбенты в комплексном лечении генерализованного пародонтита: метод. рекомендации / Л. В. Тимофеева, Л. Р. Мухамеджанова // Казан. гос. мед. ун-т Росздрава. - Казань: ИЦ "Арт-кафе", 2009. - 20 с.
262. Энтеросорбция: состояние вопроса и перспективы на будущее / В. Г. Николаев [и др.] // Вісник проблем біології і медицини: Український науково-практичний журнал. - 2007. - N4. - С. 7-16.
263. Янушевич О. О. Современный взгляд на клинко-диагностические и лечебные аспекты. Заболевания пародонта [под ред. О. О. Янушевича, В. М. Гринин, В. А. Почтаренко, Г. С. Рунова – М.: «Гэотар-Медиа», 2010. - 160 с.
264. Adams R. A. A periodontitis severity index / R. A. Adams, G. P. // Nystrom // J. Periodontol. — 1986. — V. 57. — P. 176-180.

265. Aitken R. J. Nanoparticles: an occupational hygiene review / R. J. Aitken, K. S. Creely, C. L. Tran // London: Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive, 2004.- 113 c.
266. Albandar J. M. Destructive periodontal disease in adults 30 years and older in the United States / J. M. Albandar, J. A. Brunelle, A. Kingman // J. Periodontol. - 1999. - V. 70. - P. 13-29.
267. Alt V. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement / V. Alt, T. Bechert, P. Steinrücke, et al. // Biomaterials. – 2004. – Vol. 25, 18. – P. 4383-4391.
268. Agarwal S. Altered neutrophil function in localized juvenile periodontitis : intrinsic or induced? / S. Agarwal, J. Huang, N.P. Piesco, et al. // J. Periodontol. - 1996. - V. 67. - P. 337-344.
269. Amar S. The impact of periodontal infection on systemic diseases / S. Amar, X. Han // Med. Sci. Monit. 2003. - Vol. 9, № 12. - P. 291-299.
270. American Academy of Periodontology. Guidelines for the management of patients with periodontal diseases // J. Periodontol. – 2006; 77: 1607–1611.
271. Armitage G. C. Clinical evaluation of periodontal diseases / G. C. Armitage // Periodontology. – 2000. – № 7. – P. 39–53.
272. Arruebo M. () Magnetic nanoparticles for drug delivery / M. Arruebo, R. Fernandez-Pacheco, M. R. Ibarra et al. // Nanotoda. – 2007. №2(3) - P. 22–32.
273. Assessment of risk for periodontal disease [S. Grossi et al.]. // Periodontol. - 1994. - V. 65. - P. 260-267.
274. Ballieux R.E. Impact of mental stress on the immune response / R.E. Ballieux, J. Clin. - Parodontol. - 1991. - V. 18. - P. 427-430.
275. Baptista P. V. Gold-nanoparticle-probe-based assay for rapid and direct detection of Mycobacterium tuberculosis DNA in clinical samples / P. V. Baptista, M. Koziol-Montewka, Paluch-Oles J. // Clin Chem. – 2006. №52(7). – P. - 1433-1434.

276. P. Baptista Gold nanoparticles for the development of clinical diagnosis methods / P. Baptista, E. Pereira, P. Eaton. - Anal Bioanal Chem. – 2008 - № 391(3) P - 943-950.
277. Baroli B. Penetration of metallic nanoparticles in human fullthickness ski / B. Baroli, Ennas M. G., F. Loffredo -J Invest Dermatol. – 2007. - № 127 P. 1701-1712.
278. Bawarski W. E. Emerging nanopharmaceuticals / W. E. Bawarski E. Chidlowsky, D. J. Bharali, S. A. Mousa - Nanomedicine. - 2008 Jul 17.
279. Beck J. Periodontal disease and cardiovascular diseases / J. Beck, R. Garcia, G. Heiss - J. Periodontol. - 1996. - V. 10. - P. 1123-1127.
280. Butler J. H. A familial pattern of juvenile periodontitis (periodontosis) / J. H. Butler - J. Periodontol. –1969. - V. 40. - P. 115-121.
281. Bjorn H. Free transplantation of gingiva propria / H. Bjorn - Sveriges Tandlak. Tidskr. — 1963.-V. 22. - P. 684-689.
282. Botelho M. G. The minimum inhibitory concentration of oral antibacterial agents against cariogenic organisms / M. G. Botelho - Microbios. 2000. - Vol. 103 (404). -P. 31-41.
283. Bowen W. Nature of plaque / W. Bowen - Oral Sci. Rev. — 1976. — V. 9. - P. 3-7.
284. Caffesse R. G. Scaling and root planning with and without periodontal flap surgery / R. G. Caffesse, P. L. Sweeney, B. A. Smith // J. Clin. Periodontol. - 1986. - V. 13. - P. 205-211.
285. Cai D. Highly efficient molecular delivery into mammalian cells using carbon nanotube spearing / D. Cai, J. M. Mataraza, Z. H. Qin - Nat Methods. 2005. - №2 P. 449-454.
286. Carlsson J. Presence of various types of non-hemolytic streptococci in dental plaque and in other sites of the oral cavity of man / J. Carlsson - Odontol. Revy. — 1967. — V. 18.— P. 55—59.

287. Carrero—Sanchez J. C. Biocompatibility and toxicological studies of carbon nanotubes doped with nitrogen / Carrero—Sanchez J. C., A. L. Elias, R. Mancilla - *Nano Lett.* 2006. - № 6. - P. 1609-1616.
288. Caruthers S. D. Nanotechnological application in medicine / S. D. Caruthers, S. A. Wickline, G. M. Lanza - *Current Opinion in Biotechnology.* – 2007. – Vol.18. – P. 26-30.
289. Chappie I. L. Periodontal diagnosis and treatment where does the future lie / I. L. Chappie - *Periodontol.* 2000. - 2009. - Vol. 51. - P. 9-24.
290. Chen D. Biological effects induced by nanosilver particles: in vivo study / D. Chen, T. Xi, J. Bai - *Biomed. Mater.* – 2007. – Vol. 3, № 2. – P. S126-128.
291. Chen X. Schluesener HJ Nanosilver: a nanoparticle in medical application / X. Chen - *Toxicol Lett.* 2008. - 176(1). - 1-12.
292. CIANCIO Sebastian G. Medications: A risk factor for periodontal disease diagnosis and treatment / G. CIANCIO Sebastian / *Journal of periodontology.* – 2005. - Vol. 76. - № 11. - P. 2061–2065.
293. Cogen H. S. Effect of various root surface treatments on the viability and attachment of human gingival fibroblasts / H. S. Cogen - *J. Perodontics.* — 1983. — V. 54. — P. 277—281.
294. Development of the World Health Organization (WHO) Community Periodontal Index for treatment Needs (CPITN) / [J. Ainamo [et al.] - *Int. Dent. J.* - 1982. — V 32. - P. 281-291.
295. Donaldson K. Nanotoxicology. / K. Donaldson, V. Stone, Tran CL et al. - *Occup Environ Med.* 2004. - №61. P 727-728.
296. Dreher K. L. Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles / K. L. Dreher - *Toxicol. Sci.* – 2004. – Vol. 77. – P. 3–5.
297. Dugan L. L. *Chemistry, Physics, and Technology*, edited by KM Kadish and RS Ruoff, John Wiley and Sons / L. L. Dugan, E. Lovett, S. Cuddihy - In *Fullerenes: New York* - 2000. - P.467.

298. Ebersole J. L. The protective nature of host responses in periodontal diseases / J. L. Ebersole, M. A. Taubman - *Periodontol.* 2000. - 1994. - Vol 5. - P. 112-141.
299. Egorova E. M. A. A. Revina, *Colloids and Surface.* 2000. – 168. P 87.
300. Ernest S. Nanotechnology, nanomedicine, and the development of new, effective therapies for cancer / S. Ernest, A. Kawasaki - *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* – 2005. – Vol. 1, N 2. P. 101-109.
301. Ezzo P. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease / P. Ezzo, C. Cutler // *Periodontology.* 2000. – 2003. - Vol. 32. - N 1. P. 24–35 (12).
302. Fahmy T. M. Nanosystems for simultaneous imaging and drug delivery to T cells / T. M. Fahmy, P. M. Fong, J. Park. - *AAPS J.* 2007. - № 9. - E1 71-E 180.
303. Feng Z. Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues / Z. Feng - *Periodontology* 2000. – 2006. – Vol. 40, № 1. – P. 50–76.
304. Fleszar T. J. Tooth mobility and periodontal therapy. / T. J. Fleszar, J. W. Knowles, E. G. Morrison - *J. Clin. Periodontol.* - 1980. - V. 7. - P. 495-509.
305. Foldvari M. Carbon nanotubes as functional excipients for nanomedicines: I. pharmaceutical properties / M. Foldvari, M. Bagonluri - *Nanomedicine.* 2008 Jun 11.
306. Foldvari M. Carbon nanotubes as functional excipients for nanomedicines: II. Drug delivery and biocompatibility issues / M. Foldvari, M. Bagonluri - *Nanomedicine.* 2008 Jun 11.
307. Freeman R., Gross S. Stress measures as predictors of periodontal disease — a preliminary communication / R. Freeman - *Community Dent. Oral. Epidemiol.* — 1993. - V. 21. — P. 852—856.
308. Freitas Jr RA. Nanotechnology, nanomedicine and nanosurgery. / Freitas Jr RA. - *Int J Surg.* 2005. - №3. – P. - 243-246.
309. Gaucher G. Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery / G. Gaucher, M. H. Dufresne, V. P. Sant - *J Control Release.* 2005. - №109. – P. 169-188.

310. Goya G. F. Magnetic nanoparticles for cancer therapy / G. F. Goya M. R. Ibarra - Current Nanoscience. 2008. - №4(1).P. 1–16.
311. Green J. C. The simplified oral hygiene index / J. C. Green, J. R. Vermillion - J. Am. Dent. Assoc. — 1964. V. 68. - P. 7-10.
312. Grunqvist C. Optical properties of ultra fine gold particles / C. Grunqvist, O. Hunderi - Phys. Rev. B. 1977. – V. 16 №8. – P. 3513-3534.
313. Hajfajee A. D. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases / A. D. Hajfajee, S.S. Socransky - Periodontol. - 1994. - V. 5. - P. 78-111.
314. Hans R. P. Periodontal diseases a manual of diagnosis, treatment and maintenance / R. P. Hans, L. Lars - Copenhagen: Quintessence Publishing, 2003. - 89 p.
315. Hartman K. B. Detecting and treating cancer with nanotechnology / K. B. Hartman, Wilson Li, M. G. Rosenblum - MoI Diagn Ther. 2008. - № 12(1) P. 1-14.
316. Hellstadins K. Improved maintains of plaque control by electrical toothbrushing in periodontal patients with low compUcate / K. Hellstadins, R. Asman, A. Gustafson - J. Clin. Periodontol. — 1993 - V. 20. - P. 235-237.
317. Hirsch L. R. Whole-blood immunoassay facilitated by gold nanoshell-conjugate antibodies / L. R. Hirsch, N. J. Halas, J. L. West - Methods MoI Biol. 2005. – P. 303.
318. Hoet P. H. Nanoparticles — known and unknown health risks / P. H. Hoet, I. Brüske-Hohlfeld, O. V. Salata - J. Nanobiotechnology. — 2004. — №2. — P. 1–15.
319. Huang J. Novel deposition of nano-sized silicon substituted hydroxy apatite by electrostatic spraying / J. Huang, S. N. Jayasinghe, S. M. Best - J Biomed Mater Res. 2005. - № 16. P 1137-1142.
320. Ito A. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. / A. Ito, M. Shinkai, H. Honda Kobayashi T. - J. Biosci. Bioeng. — 2005. — №100. — P. 1–11.

321. Jain K. K. Nanomedicine: application of nanobiotechnology in medical practice / K. K Jain - Med. Princ. Pract. – 2008. – Vol. 17, №2. – P. 89-101.
322. Ji X. Bifunctional gold nanoshells with a superparamagnetic iron oxide—silica core suitable for both MR imaging and photothermal therapy / X. Ji, R. Shao, A. M. Elliott - J Phys Chem C. – 2007. № 111(17). – P. 6245-6251.
323. Jun Y.-W. Nanoscaling laws of magnetic nanoparticles and their applicabilities in biomedical sciences / Y.-W. Jun, J.-W. Seo, J. Cheon - Accounts of Chemical Research. - (2008). - №41(2). – P. 179–189.
324. Kim J. S. Antimicrobial effects of silver nanoparticles / J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu - Nanomedicine. 2007. № 3(1). P 95-101.
325. Klaus-Joerger T. Bacteria as workers in the living factory: metal-accumulating bacteria and their potential for materials science / T. Klaus-Joerger, R. Joerger, E. Olsson, C. Granqvist - Trends in Biotechnology. – 2001. - vol.19. №.1. - P.15–20.
326. Kornman K. S. The role of local factors in the etiology of periodontal diseases / K. S. Kornman, H. Loe - Periodontol. 2000. - 1993. - Vol. 2. - P. 83-97.
327. Kaushik A. Advancements in nano-enabled therapeutics for neuroHIV management / A. Kaushik, R. D. Jayant, M. Nair - Int J Nanomedicine 2016. - № 11 - P. 4317–4325.
328. Kalishwaralal K. Optimization of – amylase production for the green synthesis of gold nanoparticles / [K. Kalishwaralal [et al]. - Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, - 2010. - vol.77, №.2, P.174–180.
329. Kwon G. S. Polymeric micelles for delivery of poorly water—soluble compounds / G. S. Kwon - Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. – 2003. - № 20 P. 357—403.
330. Lang N. P. Gingivitis as a risk factor in periodontal disease / N. P. Lang, M. A. Schatzle, H. Loe / Journal of Clinical Periodontology – 2009. – 36 (Suppl. 10). – P. 3–8.

331. Lim I-Im. S. Assembly of gold nanoparticles mediated by multifunctional fullerenes / Lim I-Im. S. Pan Yi., Mott D. [et al]. - Langmuir. – 2007. – V. 23. – P. 10715-10724.
332. Lobene R. R. A modified gingival index for use in clinical trials / R. R. Lobene, T. Weatherford, N.M. Ross - Clin. Prev. Dent. - 1986. - V. 8. - P. 3-6.
333. Lowry O. H. Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall - The Journal of biological chemistry. – 1951. - №193. - 265-275.
334. Massler M. The P-M-A Index for the assesment of gingivitis / M. Massler - Periodontol. — 1967. — V. 38. - P. 592-595.
335. McArtur W. P. Specific antibodies and their potential role in periodontal diseases / W. P. McArtur, W. B. Clark - Periodontol. - 1993. - V. 64. - P. 807-818.
336. Milnar F. J. Selecting nanotechnology - based composites using colorimetric and visual analysis for the restoration of anterior dentition: A case report / F. J. Milnar - Journal of Esthetic and Restorative Dentistry. -2004. - Vol. 16, Issue 2. - P. 89-101.
337. Mitra S. B. An application of nanotechnology in advanced dental materials / S. B. Mitra, D. Wu, B. N. Holmes - Journal of American Dental Association. - 2003. - Vol. 134, № 10. - P. 1382-1390.
338. Moghimi S. M. Nanomedicine: current status and future prospects / S. M. Moghimi, A. C. Hunter, I. C. Murray - FASEB. – 2005. – 19. – P. 311-30.
339. Moore W.E.C. Microbiology of periodontal disease / Moore W.E.C. - J.Periodont.Res. - 2002. - N22. - P.35-67.
340. Mori T. Preclinical studies on safety of fullerene upon acute oral administration and evaluation for no mutagenesis / T. Mori, H. Takada, S. Ito [et al.] - Toxicology. 2006. - № 225. P 48-54.

341. Moynihan P. Diet, nutrition and the prevention of dental diseases / P. Moynihan, P. E. Petersen // Public Health Nutrition. – 2004. – Vol. 7 (1A). – P. 201–226.
342. Muller R. H. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future / R. H. Muller, C. Jacobs, Kayser. - Adv. Drug. Deliv. Rev. — 2001. — №47. — P. 3–19.
343. Newman M. G. Clinical Periodontology / M. G. Newman, H. H. Takei, F. A. Carranza - Carranza's — Philadelphia: W.B.Saunders Company, 2002. — 1034 p.
344. Oberdorster G. Toxicology of ultrafine particles: In vivo studies / G. Oberdorster. - Philos Trans R Soc Lond. 2000. - A 358 P. 2719-2740.
345. Ou Q. A novel amperometric immunosensor based on layer-by-layer assembly of gold nanoparticles-multi-walled carbon nanotubes-thionine multilayer films on polyelectrolyte surface / Q. Ou [et al]. - Anal Chim Acta. 2007 - № 603(2) P. 205-213.
346. Petersen P. E. Strengthening the Prevention of Periodontal Disease: The WHO Approach / P. E. Petersen, H. Ogawa - J. Periodontol. – December, 2005. – P. 2187–2193.
347. Pihlstrom B. L. Comparison of surgical and non-surgical treatment of periodontal disease. A review of recurrent studies and additional results after 6 1/2 years / B. L. Pihlstrom, R. B. McHugh, T. N. Oliphant, C. Ortiz-Campes - J. Clin. Periodontol. - 1983. - V. 10. - P. 524-544.
348. Ramfford S. P. Indices for prevalence and incidence of periodontal disease / S. P. Ramfford - J. Periodontol. — 1959. - V. 30. - P. 51-54.
349. Ramfford S. P. The periodontal disease index (PDI) / S. P. Ramfford - J. Periodontol. - 1967. — V. 38. — P. 602-606.
350. Sastry A. Nanobiotechnology / [A. Sastry, Ahmad, M. I. Khan, and R. Kumar] - Wein-heim, Germany: Wiley-VCH: 2004.
351. Schour I. Survey of gingival disease using the PMA Index / I. Schour, M. Massler - J. Dent. Rev - 1948. - V. 27. - P. 733-735.

352. Sinha R. Nanotechnology in cancer therapeutics: bioconjugated nanoparticles for drug delivery / R. Sinha - *Mol. Cancer. Ther.* – 2006. – N 8. – P. 1909-1916.
353. Silness J. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition / J. Silness, H. Loe - *Acta Odontol. Scand.* — 1964. — V. 22. P. 121-135.
354. Stern S. T. , McNeil SE. Nanotechnology safety concerns revisited. / S. T. Stern *Toxicol Sci.* 2008. - № 101(1) – P. 4-21.
355. Tartaj P. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine / P. Tartaj, Morales Mdp, Veintemillas—Verdaguer S. [et al.] - *J Phys D Appl Phys.* – 2003. - № 36(13) P 182-197.
356. Thomas K. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part VIII: international efforts to develop risk-based safety evaluations for nanomaterials / K. Thomas, P. Aguar, H. Kawasaki [et al]. // *Toxicological Sciences.* – 2006. – Vol. 91, №1. – P. 23-32.
357. Timmerman M. F. Risk factors for periodontitis / M. F. Timmerman, van der Weijden G. A. - *Int. J. Dent. Hyg.* – 2006. – Vol. 4 (1). – P. 2–7.
358. Ulberg Z. R. Interaction of energized bacteria cells with particles of colloidal gold: peculiarities of the process / Z. R. Ulberg, A. S. Dukhin, V. I. Karamushka // *Biochimica et Biophysion Acta.* — 1992. — №1134. — P. 89–95.
359. Ulberg Z. R, Dependent Gold Accumulation by Living Chlorella Cells / Z. R. Ulberg, V. I. Karamushka, A. S. Dukhin - *ATR — Acta Biotechnologica.* — 1991. — Vol. 11. — №3. — P. 197–203.
360. Venkatesan N. Liquid filled nanoparticles as a drug delivery tool for protein therapeutics / N. Venkatesan, J. Yoshimitsu, Ito Y. [et al.]. - *Biomaterials.* 2005. - 26(34) P. 7154-7163.
361. Winter P. M. Emerging nanomedicine opportunities with perfluorocarbon nanoparticles / P. M. Winter, K .Cai, S. D. Caruthers [et al.]. - *Expert Rev Med Devices.* 2007. - № 4(2). – P. 137-145.

362. Wolf H. F. Periodontology., Rateitshak E.M.&K.H., / H. F. Wolf, T.M. Hassell - Stuttgart, New York: Thieme, 2005. - 532 p.
363. Woraz K. Antimicrobial property of silver // Toxicology. – 2001. – №12. – P. 89-93.